

緑藻ナガミルCodium cylindricumの季節的消長および生殖生態

著者	宮代 穰
学位名	修士(海洋科学)
学位授与機関	東京海洋大学
学位授与年度	2019
URL	http://id.nii.ac.jp/1342/00001879/

修士学位論文

緑藻ナガミル *Codium cylindricum* の

季節的消長および生殖生態

2019 年度

(2020 年 3 月)

東京海洋大学大学院

海洋科学技術研究科

海洋生命資源科学専攻

宮代 穰

目次

1. 緒言	1
2. 方法と材料	4
2.1 調査海域	4
2.1-1 調査地	4
2.1-2 環境要因の測定	4
2.2 ナガミルの季節的消長	5
2.2-1 岩盤上に生育するナガミルの季節的消長	5
2.2-2 海底で滞留する藻体の季節的消長	5
2.3 成熟時期と性比の調査	6
2.3-1 成熟時期の調査	6
2.3-2 性比の調査	6
2.4 生殖生態の調査	8
2.4-1 有性生殖の検証実験	8
2.4-2 単為発生の検証実験	8
2.4-3 生殖方法の違いによる成長特性の検証	8
3. 結果	10
3.1 ナガミルの季節的消長	10
3.1-1 環境要因	10
3.1-2 岩盤に着生する藻体の季節的消長	10
3.1-3 寄り藻の季節的消長	11
3.2 成熟時期と性比の調査	13
3.2-1 成熟時期の検証	13
3.2-2 性比の検証	13
3.3 生殖生態の調査	15
3.3-1 有性生殖の検証実験	15
3.3-2 無性生殖の検証実験	15
3.3-4 生殖方法の違いによる成長特性の検証	16
3.3-5 配偶子嚢様組織からの発芽	16
4. 考察	17
4.1 ナガミルの季節的消長	17
4.2 生殖生態	23
4.3 近縁種 <i>C. amplivesiculatum</i> との比較	26
5. 結論	28
6. 謝辞	29

1. 緒言

ミル属 (*Codium*) はハネモ目に属する緑藻類 (アオサ藻綱) の 1 グループで、現在、世界で 145 種類が確認されており、そのうち 21 種が日本に分布する (Yoshida et al. 2015; Kitayama 2017; Algaebase online)。藻体は潮間帯から漸深帯の岩盤などに付着し、直立または匍匐する。藻体表層部では、髓部を形成する糸状体の先端が棍棒状に膨らんで小嚢を形成し、小嚢が一層に配列して藻体表面を形成する (Bold & Wynne 1978)。この小嚢の大きさや形態は種によって異なり、種判別に用いられる。体内には深所産の緑藻類に含まれるシホネイン、シホナキサンチンとなどの色素を含有し、潮間帯など浅所に生育するほかの緑藻類に比べて、ややくすんだ緑色を呈する (横浜 1985)。種によっては 1 個体の藻体長が 10m 以上に生長することもあるが、細胞同士は明確な隔壁によって分かれておらず、多核嚢状体と呼ばれる単細胞生物である (吉田 1998)。

ミル属藻類の生活環は複相単世代型として知られ、小嚢上に形成される配偶子嚢内で減数分裂をおこなった異形の雌雄配偶子が接合することにより有性生殖をおこなう (榎本ら 1994 ; 大葉 1995)。雌性配偶子は雄性配偶子に比べ顕著に大きく、濃い色をしているため、区別は容易である (Prince & Trowbridge 2004)。接合子は基質に付着したのち発芽し、糸状の組織を伸ばして叢生体 (vaucheroid) と呼ばれる藻体を形作る。その後、この叢生体から直立体が発生する (Borden & Stein 1969; Fralick & Mathieson 1972)。

この有性生殖に加えて、ミル属ではいくつかの無性生殖手法が報告されている。一つ目は雌性配偶子による単為発生であり、*C. fragile* ssp. *fragile* (以降 *C. fragile* と表記)、と *C. isthmocladium*、*C. vermilara* などと報告がある (Borden & Stein 1969;

Malinowski & Ramus 1973; Burrows 1991; Prince & Trowbridge 2004)。二つ目は配偶子嚢によく似た組織から直接新規個体が発生する *propagation buds* (Chang et al. 2003 ; Silva 1960)、三つ目は分枝した直立体から水平に芽のような組織を形成し、断裂した後基質に付着する *vegetative buds* による栄養繁殖 (Scheibling & Melady 2008; Watanabe et al. 2009)、4 つ目が断片化 (*fragmentation*) で、直立体がちぎれたあとに基質へ再付着することや、残った付着器から再生産が行われることが報告されている (Silva 1957; Armitage & Sjøtun 2017)。5 つ目が糸状組織による栄養繁殖で、野外では *C. fragile* や *C. bernabei* などで確認され、また実験室内では直立体から採取した糸状組織を培養したのち、沖出しすると直立体が形成されることがナガミル *C. cylindricum*、ヒラミル *C. latum*、ネザシミル *C. coactum* およびハイミル *C. lucasii* で認められており、キムチ原料として *C. fragile* を利用する韓国では効率的な養殖手法としてこの特性が利用されている (四井・右田 1989 ; Hwang et al. 2008; González et al. 2014)。

上述したような無性生殖手法を持つことを一因として、ミル属の中でも *C. fragile* と *C. fragile* ssp. *tomentosoides* は、北西太平洋を中心に、地中海、オーストラリア、ニュージーランド、チリ北部など広い範囲で越境侵入種として繁栄し、在来種と競合して生育域を広げている (Campbell 1999; Dromgoole 1975; Neil et al. 2006; Lyons & Scheibling 2008; Chapman 1999)。そのため、この 2 種についての知見は屋外、室内を問わず豊富であり、生育に適する環境を調べた培養実験 (Hanisak 1979a)、ウニの *C. fragile* ssp. *tomentosoides* に対する嗜好性や、その摂食がウニの健康状態に与える影響 (Scheibling & Anthony 2001; Lyons et al. 2007)、在来コンブ類との葉上動物相の比較 (Schmidt & Scheibling 2006)、温暖化がミルの侵入と繁栄に与える影響を調べた実験・観察 (Armitage & Sjøtun 2017) など、数多くの研究がなされている。

これに対し、その他のミル属に関する生態学的研究は非常に少ない。本邦の沿岸域に広く分布するナガミル *C. cylindlicum* に関してもその詳細な生態は明らかになっておらず、上述した糸状組織からの直立体発生のほかは、囊舌目ウミウシなど他生物との関わりを報告した論文 (Hamatani 1967; Akagawa & Okiyama 1997; Trowbridge et al. 2008; Chavanich et al. 2006) に限られる。

ナガミルは、日本を含む東～東南アジア (中国、台湾、韓国、フィリピン、ベトナム) で分布が確認されており、本邦での北限は宮城県の松島湾と考えられている。

(Tseng 1984; Lee & Kang 1986; Liu 2008; Lewis & Norris 1987; Silva et al. 1987; Narita et al. 2008; Nguyen et al. 2013)。本種の藻体は円柱状、二叉分枝する直立体で、小囊が近縁種に比べて顕著に大型化することから、種判別は比較的容易であるが、最大の特徴は藻体の大きさで、藻体長は最大で 15m に達する (吉田 1998) (Fig. 1)。

近年、医学の分野ではナガミルの含有する化学物質が人間の健康増進に役立つ機能を持つとして注目を受け始めている。例えば、色素のシホナキサンチンにおいて、白血病細胞株である HL-60 細胞のアポトーシス誘導作用 (Ganesan et al. 2011)、血管新生抑制作用 (Ganesan et al. 2010) などの効果が報告されている。シホナキサンチンはミル属全般が保有する色素であるが、中でもナガミルの藻体に多く含まれることが知られている (Li et al. 2018)。また多糖類のレクチンにはフィブリン形成阻害による抗血液凝固作用が報告されている (Matsubara et al. 2003)。今後、さらに研究が進み、これらの成分を含有する健康食品等の原料としてナガミルが利用される場合、本種の生態学的知見は重要な情報になると考えられる。

本研究では、ナガミルの生態学的知見の蓄積を目的とし、野外における季節的消長と、他種で報告のある無性生殖についての検証を含めた生殖生態について調査した。

2. 方法と材料

2.1 調査海域

2.1-1 調査地

季節消長の調査と採集は2018年2月から千葉県館山市坂田地先で行った(Fig. 2). 坂田は東京湾湾口の房総半島先端部(34° 58' N、139° 46' E)に位置している。坂田地先周辺の海底は頁岩の脆い底質で、砂岩と泥岩の侵食速度の差により海岸線と並行に伸びる凹凸が観察される。磯に続く北方向の緩やかな斜面では、水深0~6mまで岩盤域と砂泥域が断続的に続き、6m以深では砂泥域となる。本研究では、ナガミルが多産する水深4~6mの岩盤域と砂泥域の混合地点で調査をおこなった(Fig. 3)。なお、本海域ではナガミルのほかに9種のミル属藻類が確認されている(菊地 2011; Shimada et al. 2007)。

2.1-2 環境要因の測定

水温と照度は2018年4月から2019年3月にかけて、調査海域の水深5m地点にHOBO pendant data logger (onset 社)を設置し、1時間に1回の頻度で記録した(Fig. 4)。

栄養塩測定用の海水は、2018年5月から毎月の調査の際に500mlボトルに採水した。海水は実験室に持ち帰り、栄養塩測定を行うまで冷凍保存した。栄養塩分析は冷凍保存したサンプルを常温で解凍し、硝酸態窒素はカドミウム還元 N-1 ナフチルジアミン赤吸光光度法、亜硝酸態窒素は N-1 ナフチルジアミン赤吸光光度法、アンモニア態窒素はインドフェノール青吸光光度法、リン酸態リンはモリブデン青吸光光度法を用いて計測した。

2.2 ナガミルの季節的消長

2.2-1 岩盤上に生育するナガミルの季節的消長

基質に付着するナガミルの季節的消長を調べるため、水深 5m 前後の岩盤上に 1 辺 2m の正方形の四隅となる位置に杭を打ち、標識を付けることで永久コドラート (2m × 2m) とし、同じコドラートを近傍に 4 区画設置した。SCUBA 潜水により、2018 年 3 月から 2019 年 2 月まで毎月一度、コドラート内の岩盤に付着するナガミルの個体密度と藻体長を計測した。本地先にはナガミルと形態の似るクロミルも多産するが、芽生え直後でも小囊の大きさにより肉眼での種判別が可能であった(Fig. 5,6)。

2.2-2 海底で滞留する藻体の季節的消長

基質に付着せず、海底を滞留する藻体（寄り藻）の季節的消長を調べるため、2018 年 4 月、密度調査用コドラートの近傍に 2m × 20m のコドラートを一つ設置した。2018 年 4 月から 2019 年 3 月まで毎月一度、コドラート内に滞留するナガミルの藻体を全て採集し、陸上で湿重量を計測した(Fig. 7,8)。ナガミルの藻体はちぎれやすく、採集時や計測時の損傷から正確な長さの計測が困難だったため、本調査では藻体長の計測は行わなかった。寄り藻は採集、計測ののち、採集地に戻した。

2.3 成熟時期と性比の調査

2.3-1 成熟時期の調査

野外での成熟時期を調査するため、2018 年 4 月から 10 月まで、毎月一度、季節的消長の調査と同じ区域で、海底に滞留するナガミル 10 藻体を採集した(Fig. 9)。なお、この年は 11 月にはナガミルの寄り藻が発見できなくなった。採集したサンプルはクーラーボックスを用いて実験室に持ち帰った後、1 つの藻体から小嚢を 100 個ずつ取り出し、光学顕微鏡によって配偶子嚢の有無と数を記録し、10 個体中の成熟率と、小嚢 1000 個の配偶子嚢形成率を算出した。1 藻体から採取された小嚢のうち、一つでも配偶子嚢の形成が観察できれば、その個体は成熟していると判別した。調査を開始した 2018 年は配偶子嚢の雌雄の判別を外見から行う予定であったが、未発達配偶子嚢と雄性配偶子嚢の判別が難しく、正確に計数することができなかった。そのため、2019 年に、雌雄の判別を含めて再度調査をおこなった。

2.3-2 性比の調査

2019 年 3 月から 9 月まで (2019 年は寄り藻が 10 月には消失していたため)、2018 年と同じ区域でサンプルを採集した。採集は、同一個体を重複して採集することを防ぐため、なるべく基質に着生している個体や、付着器ごと流出した個体を選んでおこなった。毎月一度、およそ 20 個体 (18~25 個体) を採集し、それぞれから小嚢 50 個を取り出して、2018 年と同様の方法で個体の成熟率と、小嚢の配偶子嚢形成率を算出した。ナガミルの配偶子は、ミル属のほかの種と同様に雌雄でサイズと色が異なるため、配偶子が確認できれば正確な雌雄の判別が可能である(Fig. 10)。そのため、2019 年は、配偶子嚢をスライドガラス上に置き、顕微鏡で観察しながらカバーガラスを用

いて押しつぶすことで配偶子を放出させ、その形態を観察することで配偶子嚢の雌雄を判別した。このとき、顕著な粒状の配偶子が観察できず、半固体状の内容物のみが放出された場合、配偶子の発達が進んでいない未発達の配偶子嚢とした(Fig. 11)。観察結果から、配偶子嚢を雄性配偶子嚢、雌性配偶子嚢、未発達の配偶子嚢の 3 つに分け、小嚢を雄、雌、未発達、未成熟の 4 つ、個体は雄株、雌株、雌雄同株、未発達株、未成熟株の 5 つに分類した。

2.4 生殖生態の調査

2.4-1 有性生殖の検証実験

十分成熟したナガミルの雄株と雌株 2 藻体ずつ、計 4 藻体（2019 年 9 月に採集）を滅菌海水内でよく洗浄したのち、およそ 3cm の断片に切り分けた。実験には、一区画につき雄株と雌株を一つずつ選んで使用した。雌雄の判別は、各個体から小囊 100 個を採取し、性比の調査と同様の方法でおこなった。2 つの藻体を、スライドガラスを置いたシャーレに設置し、滅菌海水 1L に珪藻除去を目的に二酸化ゲルマニウム 5 μ g を添加した培地 50mL を加え、蓋をして静置培養した。培養はインキュベーターで行い、培養条件は坂田地先の秋頃の環境を模して、温度 20°C、光量子束密度 30 μ mol photons m⁻² s⁻¹、明暗周期 11L:13D とした。藻体設置 4 日後に藻体を取り出し、配偶子の放出を確認したのち、同じ条件で培養を継続した。藻体除去後 2 日目、5 日目にスライドガラスをシャーレから取り出し、発芽体の計数と、ランダムに選択した 15 個体の全長の計測をおこなった。換水は観察時と、その後は 1 週間に一度おこない、30 日目に再度観察・計測した。反復実験は 4 回実施した。

2.4-2 単為発生の検証実験

藻体は十分成熟したナガミルの雌株（2019 年 9 月に採集）を使用し、一つのシャーレに 1 藻体ずつを設置した。培養は上述の有性生殖の検証と同様の方法・条件で行った。反復実験は 3 回実施した。

2.4-3 生殖方法の違いによる成長特性の検証

生殖方法の検証結果より、有性、無性生殖株で、生長特性や生残率に違いがある可

能性が示唆された。しかし、別個体を使用したことや、コンタミネーションの影響も考えられたため、2 試験区の条件を合わせ、再度培養をおこなった。母藻体は 10 月にサンプリングをおこなう予定であったが、台風の影響で海底の寄り藻が全て流出してしまったため、9 月に採集し、水槽内で培養していた藻体（水温 20℃前後、光量子束密度 $10 \mu \text{mol photons m}^{-2} \text{s}^{-1}$ 程度）を用いた。滅菌海水中で十分成熟した雄株、雌株の藻体を 3cm 程度に切り分けた。両試験区で使用する雌株の藻体は、1 個体を切り分けて実験をおこなった。培養条件は有性、無性生殖の検証実験と同様にした。当初、光学顕微鏡 100 視野当たりの未発芽配偶子と発芽配偶子の計数による生存率の検証、また生長特性を比較するためランダムに選択した 15 個体ごとの 2 日ごとの発芽体の全長計測を予定していたが、両試験区ともに発芽数が非常に少なく、生存率の検証を実施することはできなかった。発芽体長計測は、藻体除去後 4 日目から行い、全個体の全長を計測した。両試験区間の成長速度の比較には t 検定を用いた。培養は藻体除去後 12 日目まで、換水は各観察時に実施した。反復実験は 3 回おこなった。

3. 結果

3.1 ナガミルの季節的消長

3.1-1 環境要因

調査海域における月平均海水温の変化を Fig. 12 に示した。本海域における 2018 年 4 月~2019 年 3 月の年平均水温は 20.6℃であり、7 月に最高水温の 28.4℃、2 月に最低水温の 14.4℃を記録した。

日中の月平均光量子束密度の推移を Fig. 13 に示した。平均光量子束密度が最大となったのは 7 月で 116.5 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ 、最低となったのは 1 月の 27.0 $\mu\text{mol photons m}^{-2}\text{s}^{-1}$ であった。

海水中の DIN の季節変化を Fig. 14、リン酸態リンの季節変化を Fig. 15 に示した。DIN の年平均濃度は 1.57 $\mu\text{mol/L}$ で、12 月に最高の 4.11 $\mu\text{mol/L}$ 、9 月に最低の 0.28 $\mu\text{mol/L}$ を記録した。リン酸態リンの年平均濃度は 0.10 $\mu\text{mol/L}$ であり、5 月に最高の 0.46 $\mu\text{mol/L}$ 、2、3、7、9、10、11 月には検出限界の 0.01 $\mu\text{mol/L}$ 以下を記録した。

3.1-2 岩盤に着生する藻体の季節的消長

4 試験区の枠内に着生したナガミルの平均密度の推移を Fig.17 に示した。調査開始時の 2018 年 3 月から 4 月にかけてやや密度は増加したものの (0.44 ± 0.27 個体/ $\text{m}^2 \rightarrow 0.56 \pm 0.27$ 個体/ m^2)、夏季に向かって密度は減少し、8 月には岩盤上からすべての個体が消失した。その後、10 月までナガミルの着生個体は発見されなかったが、11 月に新規加入個体が確認され (0.13 ± 0.13 個体/ m^2)、2019 年 2 月には最大密度の 1.1 ± 0.6 個体/ m^2 を記録した。

枠内着生藻体の平均藻体長の推移を Fig. 16 に示した。平均藻体長は 2018 年 5 月に最大の $19.0 \pm 29.7 \text{ cm}$ ($n=6$) となったが、6 月の調査時には急減し ($3.12 \pm 2.7 \text{ cm}$; $n=4$)、8 月には消失した。11 月に確認された新規加入個体は個体数を増加させ、2019 年 2 月には最大密度を記録したが、藻体長の成長はほとんど見られず、11 月～2 月の平均藻体長は 5cm 以下で推移した。観察できた最大の着生藻体は 5 月の藻体で、藻体長 85.2cm であった(Fig. 19)。しかし、海底には 5 月時点でも明らかに 1m を超えるナガミルの寄り藻が数多く滞留していた。

3.1-3 寄り藻の季節的消長

枠内に滞留したナガミルの寄り藻の密度の推移 (g/m^2) を Fig. 20 に示した。寄り藻は 2018 年 6 月に、前月に比べて 6 倍以上に増加し ($38.8 \text{ g/m}^2 \rightarrow 247.5 \text{ g/m}^2$)、8 月には年間の最大密度 (283.8 g/m^2) を記録したものの、9 月には急減し ($283.8 \text{ g/m}^2 \rightarrow 37.5 \text{ g/m}^2$)、11 月には発見できなくなった。7 月に 1 藻体だけ海中で長さを計測したところ、藻体長は 6.4m で、8 月までは、同様の長大な藻体 (およそ 5~10m) が多数観察されたが (Fig. 21)、9 月には長大な藻体がちぎれて発生したと考えられる長さ 5~20cm 程度の短い断片が増加していた(Fig. 22)。

寄り藻を採集する際、水中で葉上動物の観察をおこなったところ、主に夏季 (6~8 月) に囊舌目ウミウシのうちミドリアマモウミウシ *Placida dendritica*、ヒラミルミドリガイ *Elysia trisinuata*、アオモウミウシ *Stiliger ornatus* の 3 種を確認した (Fig. 23)。ミドリアマモウミウシについては、ナガミル藻体上に産み付けられた卵塊も観察された (Fig. 24)。これらの動物を研究室に持ち帰り、ナガミルの藻体を与えたところ、摂餌を確認することができた。また海中では、5 月にアメフラシ *Aplysia kurodai* がナガミル

を摂食している様子を観察することができたが、その他の生物による摂食は観察することはできなかった(Fig. 25)。

3.2 成熟時期と性比の調査

3.2-1 成熟時期の検証

採集した藻体の個体ごとの成熟率を Fig. 26 に、小囊の配偶子囊形成率を Fig. 27 に示した。藻体の成熟（配偶子囊の形成）は 2018、2019 年ともに 6 月に初めて確認され、9 月には観察した全個体で成熟が確認された。小囊の配偶子囊形成率は、6~8 月時点では低水準（2018 年:0.3~9.4%、2019 年：0.8~21.1%）であったが、両年とも 9 月の調査時に顕著に上昇した（2018 年：9.4→60.4%、2019 年：20.8→63.4%）。

成熟した藻体には、未成熟の藻体と比較して特に目立った外見的特徴（色調変化、毛の有無など）は認められず、肉眼で成熟の有無を判断することは困難であった。また、成熟率が上昇する 8 月以降の藻体は全て基質から脱落し、断片化した寄り藻であり、藻体の部位による成熟時期、頻度の違いなどは検証することができなかった。

3.2-2 性比の検証

採集した藻体ごとの性比を Fig. 28 に、小囊ごとの雌雄比を Fig. 29 に示した。個体の性比には顕著な偏りはなく、成熟時期にも性差は見られなかった。小囊ごとの性比はやや雄に偏ったものの、成熟時期の雌雄差はなかった。観察したほとんどの藻体は雌雄異株であったが、成熟が初めて確認された 6 月以降、毎月の調査で雌雄同株を少数確認した。この雌雄同株は、隣接する小囊同士でも雌雄が異なる場合はあったが、一つの小囊における雌雄両方の配偶子囊形成は観察されず、また、Prince & Trowbridge (2004) が報告したような一つの配偶子囊から形態の異なる 2 種の異形配偶子が放出されることも確認できなかった。

ナガミルの配偶子は、ミル属のほかの種と同様に異形配偶子で、大きさは雄性配偶

子が長さ 2.7~4.5 μm 、雌性配偶子が長さ 15.9~20.1 μm と、雌性配偶子が顕著に大きかった。また色彩にも違いがあり、雌性配偶子は濃い緑色であったのに対し、雄性配偶子は薄い緑色であった。両配偶子とも涙滴状で、眼点は持たず、配偶子囊からの放出後、2本の鞭毛で活発に泳ぎ回った。ときには配偶子囊内で活発に動き回る様子も観察された。十分に発達した配偶子囊の場合、雄性配偶子囊は褐色で、明瞭な粒状組織は観察できなかったが、雌性配偶子囊はほとんど黒に近い濃い緑色を呈し、ブドウの房のように粒状の配偶子が観察できた。しかし、配偶子の発達段階によって外見から判別しにくい場合もあり、本調査ではすべての配偶子囊から配偶子を放出させ、雌雄・未発達の判別をおこなった。

3.3 生殖生態の調査

3.3-1 有性生殖の検証実験

藻体除去後の観察時点で、密集した配偶子による無数の発芽が確認されたため、藻体除去後 2 日目には発芽数の計数をおこなうことができなかった。接合した配偶子は着底後、球形化し、太さ 8~14 μm 程度の発芽管を伸長させた。発芽管は原細胞を中心に二極的に生じ、発芽開始直後は片側からのみの発芽と思われた場合も、日数経過とともに反対側からの発芽が確認された。しかしほとんどの場合、そのうち発芽管が長く生長するのは片方のみで、反対側には新たに短い発芽管が数本伸長した(Fig. 30)。発芽体は 1 か月が経過しても順調に生長を続け、ミル属の他種（大葉 1995）と同様に分枝する糸状組織となった(Fig. 31)。

3.3-2 無性生殖の検証実験

藻体除去後の観察時点で、少数の発芽体を観察することができた。放出された配偶子は、有性生殖の検証実験に比べて少なかった。2 日後の観察では、3 試験区で平均 6 ± 1.6 個体の発芽が見られ、5 日後には 3 試験区のうち 2 つの試験区で 15 個体以上の発芽が確認された。1 か月の培養後、発芽体の多くは枯死しており、生存していた個体は 3 試験区合計で 9 個体のみであった（うち 1 試験区では全個体が死滅）(Fig. 32)。Fig. 32 に示したように、有性生殖個体に比べ、本実験の発芽体は成長速度が遅かった。しかし、発芽直後の発芽体の形態、成長過程などに有性生殖試験区との顕著な違いは見られなかった。

3.3-4 生殖方法の違いによる成長特性の検証

有性生殖試験区では 3 試験区合計で 11 個体、無性生殖試験区では 3 試験区合計で 25 個体の発芽が確認された(Fig. 33)。藻体除去 4 日後から 12 日後までの発芽体長の推移を Fig. 34 に示した。発芽体長は、計測した全区間で有性生殖試験区が有意に大きかった (t 検定 ; $p < 0.05$)。しかし、水槽内で長期間培養していた母藻体を使用したためコンタミネーションが著しく、培養を中断せざるを得なかった。

3.3-5 配偶子嚢類似組織からの発芽

生殖生態の検証のため、水槽で培養保存していた藻体の小嚢を観察したところ、小嚢に形成された、配偶子嚢に酷似した組織の頂端から、発芽体や、直立体の髄部によく似た糸状組織の発生が見られた(Fig. 35)。この組織は野外から採取した直後の藻体では発見できず、水槽内で長期間 (1 か月程度) 培養した藻体からのみ発見できた。外形の特徴は頂端から組織が伸長していることを除いてナガミルの配偶子嚢に似るが、内部に明瞭な配偶子は観察できず、その特徴は未発達配偶子嚢とよく似ていた。この組織をシャーレ内で培養したところ、糸状組織は伸長し、発芽体から発生した叢生体のような形態に生長した。また、この組織が確認された藻体の保存培養を長期間 (6 か月程度) に渡っておこなった際、既存の藻体から垂直に、直径 3mm ほどの芽生えによく似た藻体が発生した (Fig. 36)。

4. 考察

4.1 ナガミルの季節的消長

藻体の流出・生長

基質に付着したナガミルの平均藻体長は、5月に最大となったものの、6月の調査時には多くの藻体が流出、またはちぎれることにより顕著に小さくなった。ミル直立体の断片化、流出は、晩秋～冬にかけて多くの報告があり、水温の低下が原因の一つとされているが (Fralick & Mathieson 1972 ; Trowbridge 1998)、本研究では水温の上昇する初夏～夏に発生した。調査海域周辺には、2018年6月4日に大型の台風5号が接近しており、この台風による海中の流動増加が、着生ナガミルの流出に大きな影響を与えたと推察される。ノヴァスコシア州のタイドプールに生育する *C. fragile* ssp. *tomentosoides* は、水流の影響でも断片化が起こりやすくなることが報告されている (Begin & Scheibling 2003)。さらに、カリフォルニア州の *C. amplivesiculatum* で観察された密度低下は、晩秋に発生する台風が最も大きな要因とされている (Riosmena-Rodriguez & Holguin-Acosta 2008)。このことから、本研究で発生した断片化の原因の一つが台風による流動増加である可能性が高い。なお、館山市坂田地先では、2000年から2018年までの平均で3.42個(6月～8月に限定しても1.7個)の台風の接近が記録されており(気象庁 online)、岩盤上からの流出は、2018年に例外的に発生した現象ではなく、毎年発生していると考えられる。

その他の原因として、ナガミル自体の形態的特徴があげられる。調査地点には、ナガミルのほかにクロミル *C. subtubulosum* が多産する。クロミルはナガミルと形態がよく似るが、藻体長が最大でも1.5m程度にしかならず、藻体がナガミルに比べて強靱であることが知られている(千原 1970)。本研究の個体密度調査では、クロミルについても同枠内における密度を計測した。その結果、個体密度は3月～8月の期間で0.38

～0.44 個体/m² を維持したことが確認され、毎月個体密度が減少し、8 月までに枠内基質上の個体が全て消失したナガミルに比べて、個体密度減少が少なく、消失時期も遅かった。また、*C. fragile* の断片化は大きく生長した藻体で顕著に発生しやすく、藻体全体の流出を防ぐため、分枝部の付け根が狭窄する現象が報告されている (Fralick & Mathieson 1972)。これらのことから、ナガミルの基質からの流出には、藻体が大型で脆いナガミルの特徴によるところが大きいと推察される。

ナガミルは基質からの脱落后も成長を続け、8 月に寄り藻の密度が最大となった。ナガミルは、強光、長日条件においてより速く生長することが調べられており (宮代卒業論文)、光強度の増加、長日条件がナガミルの成長に適していたことが、夏季に寄り藻が増加した原因の一つと考えられる。これは、直立するミル属のほかの種でも同様の傾向があり、カナダのノヴァスコシアに侵入した *C. fragile* は、水温、光強度の上昇する夏季の海中での被度が増加し、タイドプール内で藻体長の成長が認められた (Malinowski & Ramus 1973; Schmidt & Scheibling 2005; Scheibling & Gagnon 2006)。アメリカのニューイングランドや地中海、ノルウェーでは *C. fragile* ssp. *tomentosoides* についての報告があり、こちらも高水温、強光条件となる夏季に高成長が確認されている (Fralick & Mathieson 1973; Armitage & Sjøtun 2017; Bulleri & Aioldi 2005)。

Fragmentation

C. fragile と *C. fragile* ssp. *tomentosoides* では、藻体の先端部が断片化したのち、基質に再度付着すること、および、残存した付着器から再度直立体が発生することが知られている (Fralick & Mathieson 1972; Trowbridge 1998; Drouin et al. 2016)。Fralick & Mathieson (1972) は、*C. fragile* を実験室内で基質とともに培養した実験により、3~6

日で全ての断片による再付着が確認されたことを報告している。本研究では、ナガミルの寄り藻は基質からの離脱後、最低でも2か月以上は海底に滞留していたものの、コドラート内外を問わず、基質への再付着は観察することができなかった。再付着の報告がある *C. fragile* と *C. fragile* ssp. *tomentosoides* はどちらも多年生であることが知られている (Trowbridge 1998)。これに対し、ナガミルの場合は、直立体の脱落后も基質上に残存する盤状の付着器を発見できなかったことや、10月までに寄り藻となって生存していた藻体が全て消失したことから、一年生である可能性が高い。この生活史の違いから、ナガミルでは基質への再付着が認められなかったと考えられる。*C. fragile* と *C. fragile* ssp. *tomentosoides* が持つ再付着能力は、越境侵入の成功に大きく寄与したとされており、ミル属以外の侵入種においても同様の性質が越境侵入に与える影響は大きい (Ceccherelli & Cinelli 1999; Lyons & Scheibling 2009; Watanabe et al. 2009)。このことから、ナガミルによる越境侵入が現在報告されていない理由の一つが、再付着能力の欠如にあると推察できる。

新規加入藻体

基質に着生した藻体は8月に全て消失したが、11月に2cm程度の個体が観察された。その後着生個体数は増加し、2019年2月には年間最大密度を記録したが、藻体の成長はほとんど見られなかった。この結果から、ナガミルの新規加入は晩秋～早春におこなわれるが、同時期の海洋環境はナガミルの生育には適していないと考えられる。藻類の生長を制限する要因としては、海水中の栄養塩の不足がしばしば取り挙げられており、ミル属では *C. fragile* ssp. *tomentosoides* を用いた室内実験で窒素欠乏による生長制限の報告がある (Hanisak 1979b; Lapointe 1987)。しかし、本研究の栄養塩分析の

結果では、冬季の DIN、PO₄-P の値は夏季に比べて高い傾向が見られたため、栄養塩の不足が生長を制限する要因とは考えづらく、ほかの環境要因によって生長が制限されたと考えられる。*C. fragile* の野外観察結果 (Hanisak 1979b) によれば、年平均水温が 12.0℃ (最高水温 22.6℃ ; 最低水温 2.0℃) のアメリカ、ロードアイランド州では最低 10~13℃ が藻体の生長に要求される (年平均水温が 9.8℃ のノルウェー、ベルゲンではより低水温の 6.6~8.6℃ でも生長を確認 : Armitage & Sjøtun 2017)。ナガミルは *C. fragile* に比べて、より温暖なアジアの温帯~熱帯域に分布しているため、*C. fragile* よりも高い水温で生長が制限される可能性が高い。しかし、ナガミルの生長は、15~25℃ の範囲では水温が大きく影響しないという実験結果もあり (宮代 卒業論文)、本調査地における最低水温も 14.4℃ であったため、低水温よりも、むしろ冬季の弱光、短日条件が藻体の生長を制限していると考えられる。

寄り藻の消失

海底を滞留した寄り藻は、8 月に最大密度となったものの 9 月には 1/7 以下に急減し、11 月には消失した。それに対し、8 月まで低水準を維持していた小囊の成熟率は 9 月に急上昇し、両年とも年間最高の成熟率を記録した。藻類における成長と再生産のトレードオフについては、イワヅタ属、サボテングサ属などについて調べられている (Hillis-Colinvaux 1980)。中には生殖細胞の放出と同時に藻体が枯死する種も知られ、本研究において観察された寄り藻の消失には、再生産にエネルギーを利用したことにより藻体の維持が困難になったことが大きく影響したと考えられる。

ほかに考えられる寄り藻の消失要因として、植食動物による摂食があげられる。本研究では、海中のナガミル上で、ヒラミルミドリガイ、ミドリアマモウミウシ、アオ

モウミウシという 3 種の囊舌目ウミウシを確認した。囊舌目ウミウシはミル属、イワヅタ属などハネモ目藻類を特異的に摂食する軟体動物の一群で、筆者も水槽内でナガミルの摂食、海底の藻体上に産み付けられた卵塊を確認した。ヒラミルミドリガイの季節的消長は、Trowbridge et al. (2008)によれば、春に体重のピークとなり産卵、夏には新規加入が最も多く見られ、晩夏から早秋にかけて産卵をおこない、幼生が越冬するとされている。またミドリアマモウミウシは、早春に姿を現し始め、6 月頃に個体数がピークとなり、秋季までに減少する (Trowbridge 1992)。これらのことから、ナガミルが基質上または寄り藻として生育する春～秋の間は、少なくともヒラミルミドリガイとミドリアマモウミウシによる摂食を受けていた可能性がある。前述したように、春～夏はナガミルの生長が盛んな時期であり、ウミウシ類による被食があっても再度生長できるが、寄り藻が急減した 9 月はナガミルの成熟のピークであり、トレードオフにより生長が止まると考えられるため、被食の影響を大きく受けた可能性がある。アメリカ、オレゴン州の *C. setchellii* の生育はミドリアマモウミウシによる被食に大きく制限されるという報告もあり (Trowbridge 1996)、本調査地においても、囊舌目ウミウシがナガミルの消失に貢献した可能性は十分に考えられる。秋季の調査地では、植食性魚類であるアイゴ *Siganus fuscescens*、ブダイ *Calotomus japonicus*、イスズミの仲間などが観察された。しかし植食性魚類は、藻体に含有される忌避物質によりミル属への嗜好性が低いことが知られ (Hay et al. 1987)、館山市沿岸で行われたアイゴの消化管内容物調査でも、ミル属に限ればクロミルとヒラミルがわずかに発見されたのみで、ナガミルは発見されなかった (瀬戸 2019)。そのため、本海域において、植食性魚類によるナガミルの摂食はほとんどないと考えられる。

成熟時期

ナガミルの配偶子形成は、2018 年、2019 年ともに 6 月に初めて確認され、8 月まで低水準であったが、9 月にはそのおよそ 3~6 倍まで配偶子嚢形成率が急上昇した。ミル属の成熟時期について、日本の三河湾の *C. fragile* では 9 月に顕著なピーク（新崎ら 1956）、アメリカ、コネチカット州の *C. fragile* ssp. *tomentosoides* では晩夏～初秋(Ramus 1972)、メキシコ湾の *C. amplivesiculatum* では 6 月に確認され始め 10~11 月にピーク（Riosmena-Rodriguez & Holguin-Acosta 2008）と報告されており、本研究で観察された夏～秋にかけての成熟は、直立するミル属の多くの種類に共通する特徴と考えられる。なお *C. fragile* および *C. isthmocladium* では雌株が雄株に先立って成熟する成熟時期の雌雄差が報告されているが（Prince & Trowbridge 2004）、本研究のナガミルでは雌雄の成熟時期に差はなかった。

4.2 生殖生態

配偶子による有性生殖・無性生殖

本研究の生殖生態調査では、雌雄の藻体を同時に設置した試験区で無数の発芽体が観察された。配偶子同士の接合は直接観察することはできなかったが、この実験によって発生した発芽体は、配偶子同士の接合、すなわち有性生殖で生じた個体と考えられる。有性生殖検証区では、単為発生検証区に比べ顕著に多量の発芽体が生じたことから、本調査地においてナガミルは主に有性生殖によって個体群を維持していると考えられる。東京湾の *C. fragile* およびクロミル、カナダ、バンクーバーの *C. fragile*、アメリカ、メイン州の *C. fragile* ssp. *tomentosoides* でも主な生殖方法は有性生殖とされており、ナガミルも同様と考えられる（大葉 1995; Borden & Stein 1969; Prince 1988）。

雌株 1 藻体のみを設置した単為発生検証区でも、少数ながら発芽体が観察された。これは、雌性配偶子による単為発生によって生じたと推察されるが、雌雄同株による自家受精によって生じた可能性も否定できない。現時点で、この発芽体を単為生殖個体と断言することはできないが、以下に、既往知見を参考に単為生殖の可能性を検討する。

まず、ミル属では、雌性配偶子による単為発生が *C. fragile*、*C. vermilara*、*C. tomentosum* の少なくとも 3 種で確認されており、*C. fragile* の亜種である *C. fragile* ssp. *tomentosoides* と、*C. fragile* ssp. *novae-zelandiae* においても単為発生が認められている（Ramus 1972; Prince & Trowbridge 2004; Miravalles et al. 2012）。

本研究において観察された有性生殖由来発芽体と、単為発生由来発芽体と考えられる個体の間の初期成長特性や生残率の違いについては、緑藻のいくつかの種で似たような報告がある。Lin et al. (2008) は、緑藻スジアオノリ *Ulva prolifera*（論文中では

Enteromorpha prolifera として記述) では、実験下で未接合の配偶子による発芽が確認されたものの、ほとんどの場合、生育途中で枯死したことを報告している。また、Eckhardt et al. (1986) によれば、単為発生が恒常的に起こるとされる緑藻ホソツユノイト *Derbesia marina* においても、単為発生個体は有性生殖個体に比べ顕著に細いという。さらに、*Ulva mutabilis* では、未接合の配偶子は2~8%程度で発芽が認められたにすぎなかった (Hoxmark 1975)。これらの知見は、本研究において観察された「単為発生個体と考えられる発芽体」において、有性生殖検証試験区の発芽体に比べ、顕著に発芽数が少なく、再実験でも有意に生長が遅かったという結果と一致する。

単為発生が個体群の維持に寄与している場合、その個体群の性比が大きく偏ることが褐藻ウスカワフクロノリ *Colpomenia peregrina* やムチモ *Cutleria cylindrica* において報告されている (Kitayama et al. 1992; Yamagishi & Kogame 1998)。ミル属では雌株のみが生育する個体群が地中海やアメリカ、ニューヨーク州のロングアイランドで見つかり、個体群の維持を雌性配偶子による単為発生のみでおこなわれていると考えられている (Churchill & Moeller 1972; Borden & Stein 1969)。本研究では、ナガミルの性比に大きな偏りは認められなかった。しかし、褐藻 *Lessonia nigrescens* では、配偶体の性比が雄:雌=1:1 の個体群であっても、実験下では単為発生個体が生じたほか、野外でも単為発生株と考えられる個体を確認している (Oppliger et al. 2007)。これらの知見から、ナガミルの雌性配偶子は、単為発生する可能性は十分に考えられるが、偶発的で確率が低く、また発芽後も生長が遅いか枯死してしまうため、個体群の維持に大きく影響していないと考えられる。

配偶子嚢類似組織

本研究では、配偶子嚢に酷似した組織からの発芽が確認された。同様の現象が、*C. vermilara*、*C. isthmocladium* と *C. edule* で報告されており、propagation bud と呼ばれている (Chang et al. 2003)。Chang et al. (2003) によれば、Propagation bud は無性生殖で生じる組織の一つで、培養を続けることで生長し、小嚢の形成まで確認している (同条件の培養でも、配偶子嚢からの発芽は確認されていない)。さらに *C. edule* は、ミル属のほかの種と異なり、有性生殖をおこなう配偶子嚢が野外では少数確認されるのみで、主にこの組織による無性生殖により個体群を維持していることが示唆されている。さらに、DNA 量の比較では、Propagation bud は配偶子嚢の 2 倍の核 DNA を保有しており、配偶子形成時の減数分裂の際になんらかの不具合が生じた配偶子嚢が Propagation bud となったと考えられている。本研究で見つかった配偶子嚢類似組織は、Chang et al. (2003) が報告した Propagation bud と培養後の発芽様式などがほぼ一致していた。さらに、長期間培養藻体から発生した芽生えに酷似した組織が配偶子嚢様組織から発生した可能性があり、ナガミルも、*C. edule* と同じ様に Propagation bud による無性生殖能力をもつ可能性が高い。ただし、本研究で採集した藻体は、雌雄の配偶子を形成した藻体がほとんどで、また配偶子嚢様組織による発芽が確認されたのが採集直後ではなく、長期にわたる水槽内での保存培養後であることから、野外において恒常的に無性生殖が行われているかどうかについて、さらに研究を進める必要がある。

4.3 近縁種 *C. amplivesiculatum* との比較

メキシコ湾などに広く分布する *C. amplivesiculatum* は、ミル属のなかでも特にナガミルに酷似した種で、藻体長はナガミルと同様に最大で 10m を超え、その他の形態的特徴も、直径 0.8~1.0cm、二叉分枝を繰り返し分枝部は大きく平たくなり、小嚢は 1.4-1.8mm と他種に比べ大型であることなど共通する部分が多い (Setchell & Gardner 1924; Chacana et al. 2016)。本種は夏~冬のカリフォルニア湾における海藻バイオマスの主な構成要素となっており、同海域に生息するアオウミガメ *Chelonia mydas* の主要な餌料と考えられている (Steller et al. 2003; Paül-Chávez & Riosmena-Rodríguez 2000; López-Mendilaharsu et al. 2008)。野外生態は、11 月~4 月に新規加入、6 月~8 月に最大藻体長、バイオマスとなり、多くの藻体が 9 月に台風の影響で断片化し、冬季に向かって減少するとされ、こちらもナガミルとの共通点が多い (Riosmena-Rodríguez & Holguín-Acosta 2008)。しかし、そのバイオマスはナガミルに比べて圧倒的に大きく、メキシコ、カリフォルニア湾南東部における *C. amplivesiculatum* の最大生物量密度は 10,097g/m² という特筆すべき値を記録しており、本研究で得られたナガミルの最大密度のおよそ 37 倍である。形態的特徴や生態が似通っているにもかかわらず、なぜこれほどまでに生物量に差が生まれるのか。その理由として、①生育環境と②生殖生態の違いが考えられる。坂田地先のナガミル生育地が砂地と岩盤の混合域であるのに対して、*C. amplivesiculatum* が生育する海域の底質は浮遊性の無節石灰藻が覆う基質 (Rhodolith bed) である (Riosmena-Rodríguez & Holguín-Acosta 2008)。海底の砂は、基質の被覆による藻類の新規加入時の付着成功率の低下や発生初期の光量制限、また直立体に対してその流動による摩耗、損傷など負の影響を与えるとされる (Devinny & Volse 1978; D'Antonio 1986)。さらにアメリカ、オレゴン州に生育するミル属の *C. setchellii* は、砂

が被る基質での生残率や被度が、砂が被らない基質の場合と比べて低かった (Trowbridge 1996)。このことから、坂田地先においても、砂による影響がナガミルの繁茂を制限する要因となっていると考えられ、今後、実験により明らかにしていく必要がある。

そして、②生殖生態についても、興味深い違いが認められる。ナガミルが 9~10 月という短い期間に成熟率がピークになるのに対し、*C. amplivesiculatum* は直立体の生育期間のうち、初春を除き長期間 (7~11 月) にわたって成熟藻体が優占し、一年に複数回繁殖するとされている。さらに、本研究中の観察において、ナガミルでは一つの小囊に形成される配偶子囊が 1 つか 2 つであったのに対し、*C. amplivesiculatum* の成熟のピーク時には、1 つの小囊に 5 個以上の配偶子囊が形成された場合もあったと報告されている (Riosmena-Rodríguez & Holguín-Acosta 2008)。このような繁殖期の長さの違い、加えて形成される配偶子の数の違いも、ナガミルが *C. amplivesiculatum* ほど繁栄できなかった理由と推察される。

5. 結論

千葉県館山市坂田地先におけるナガミルは、11月から2月の晩秋～冬季にかけて新規加入が行われるが、環境条件は生長に適しておらず、藻体長は5cm以下で推移する。

その後、日照時間や光量の増加に伴って5月頃まで基質上で生長するものの、生長に伴う抵抗の増加などが原因で基質から脱落する。脱落后は寄り藻として海底に滞留しながら生長を続け、藻体長は5mを上回るほど大きくなり、8月に寄り藻の密度は最大となる。9月には成熟率が急上昇するが、寄り藻は小さな断片となって減少し、晩秋までに海底から消失する。これが本研究で明らかにすることができたナガミルの季節的消長である。この季節的消長から、本種は一年生海藻と考えられる。

実験の結果より、本調査地におけるナガミルの再生産方法は主に有性生殖と考えられるが、雌性配偶子による単為発生や、配偶子嚢様組織による無性生殖の可能性が示唆された。ミル属においては生殖生態に関して未解明な部分が多く、また同種であっても個体群によって異なる生存戦略をとる例も確認されているため、今後、異なる海域の個体群と比較するなどして、実態を明らかにしていく必要がある。

6. 謝辞

本研究の遂行および論文の作成に際し、多大なご指導および本稿の校閲を賜った東京海洋大学応用藻類学研究室の藤田大介准教授に心より感謝申し上げます。また、本研究の遂行中有益な助言を数多くいただいた東京海洋大学応用藻類学研究室の二羽恭介准教授、神戸大学内海域環境教育研究センターの秋田晋吾博士、現地調査にあたりお世話になった、清水庄太氏をはじめとする東京海洋大学水圏化学フィールド教育研究センター館山ステーション職員の皆様、潜水調査の際や室内実験などで、多くのご協力をいただいた応用藻類学研究室の先輩方、後輩の皆様に深く感謝いたします。

7. 参考文献

- Akagawa, I. & Okiyama, M. Reproductive and feeding ecology of *Rudarius ercodes* in different environments. *Ichthyol. Res.* **44**, 82–88 (1997).
- Antonio, C. M. D. Role of sand in the domination of hard substrata by the intertidal alga *Rhodomela larix*. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **27**, 263–275 (1986).
- 新崎盛敏, 徳田広, 藤山和恵. ミルの生殖と体成形. 植物学雑誌 **69**, 39-44 (1956).
- Armitage, C. S. & Sjøtun, K. Can an old alien benefit from rising ocean temperatures? An experimental and field study on the growth and local distribution of *Codium fragile* subsp. *fragile* (Chlorophyta). *Mar. Biol.* **164**, 1–20 (2017).
- Bégin, C. & Scheibling, R. E. Growth and Survival of the Invasive Green Alga *Codium fragile* ssp. *tomentosoides* in Tide Pools on a Rocky Shore in Nova Scotia Growth and Survival of the Invasive Green Alga *Codium fragile* ssp. *tomentosoides* in Tide Pools on a Rocky Shore in Nova Scotia. *Bot. Mar.* **46**, 404–412 (2003).
- Bold, C. B. & Wynne, M. J. Introduction to the algae, Structure and reproduction. Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, N.J. (1978)
- Borden, C. A. & Stein, J. R. Reproduction and early development in *Codium fragile* (Surngar) Hariot: Chlorophyceae. *Phycologia* **8**, 91–99 (1969).
- Bulleri, F. & Airoidi, L. Artificial marine structures facilitate the spread of a non-indigenous green alga, *Codium fragile* ssp. *tomentosoides*, in the north Adriatic Sea. *J. Appl. Ecol.* **42**, 1063–1072 (2005).
- Burrows, E. M. Seaweeds of the British Isles. *Natural History Museum Publications* (1991).

Campbell, S. J., Silva, V. G., Port, W., Ppb, A. & Bay, P. P. Note occurrence of *Codium fragile* subsp. *tomentosoides* (Chlorophyta, Bryopsidales) in marine embayments of southeastern Australia 1 in large numbers on 30 January 1997 in Port Phillip tween populations in Port Phillip Bay and those in. *J. Phycol.* **35**, 938–940 (1999).

Ceccherelli, G., Cinelli, F.,. The role of vegetative fragmentation in dispersal of the invasive alga *Caulerpa taxifolia* in the Mediterranean. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* 182,299–303. (1999).

Chacana, M. E., Silva, P. C., Pedroche, F. F. & Miller, K. A. *Codium* (Chlorophyta) species presented in the Galápagos Islands Las especies del género *Codium* (Chlorophyta) presentes en las Islas Galápagos. *Hidrobiologica* **26**, 151–159 (2016).

Chang, J. S., Dai, C. F. & Chang, J. Gametangium-like structures as propagation buds in *Codium edule* silva (Bryopsidales, Chlorophyta). *Bot. Mar.* **46**, 431–437 (2003).

Chapman, A. S. From introduced species to invader : what determines variation in the success of *Codium fragile* ssp. *tomentosoides* (Chlorophyta) in the North Atlantic Ocean? *Helgolander Meeresuntersuchungen* **52**, 277–289 (1999).

Chavanich, S., Harris, L. G., Je, J. G. & Kang, R. S. Distribution pattern of the green alga *Codium fragile* (Suringar) Hariot, 1889 in its native range, Korea. *Aquat. Invasions* **1**, 99–108 (2006).

千原 光雄. 標準原色図鑑全集. 保育社.(1970)

Churchill, A. C. & Moelloer, H. A. Seasonal patterns of reproduction in New York populations of *Codium fragile*(Sur.) Hariot subsp. *tomentosoides* (Van

- goor) Silva. *J. Phycol.* **8**, 147–152 (1972).
- D'Antonio CM Role of sand in the domination of hard substrata by the intertidal alga *Rhodomela larix*. *Mar Ecol Prog Ser* 27:263-275.(1986)
- Devinny, J. S. & Vorse, L. A. Effects of Sediments on the Development of *Macrocystis pyrifera*. *Mar. Biol.* **48**, 343–348 (1978).
- Dromgoole, F. I. Occurrence of *Codium fragile* subspecies *tomentosoides* in New Zealand waters. *New Zeal. J. Mar. Freshw. Res.* **9**, 257–264 (1975).
- Drouin, A., McKindsey, C. W. & Johnson, L. E. Dynamics of recruitment and establishment of the invasive seaweed *Codium fragile* within an eelgrass habitat. *Mar. Biol.* **163**, 1–12 (2016).
- Eckhardt, R. Schnetter, R. Seibold, G. Nuclear behaviour during the life cycle of *Derbesia* (Chlorophyceae). *Br. Phycol. J.* **21**, 287–295 (1986).
- 榎本幸人 李 義真 平岡雅規 堀 輝三編, 藻類の生活史集成 第 1 巻. p. 278-279. 内田老鶴圃.(2004)
- Fralick, R. A. & Mathieson, A. C. Winter fragmentation of *Codium fragile* (Suringar) Hariot ssp. *tomentosoides* (van Goor) Silva (Chlorophyceae, Siphonales) in New England. *Phycologia* **11**, 67–70 (1972).
- Fralick, R. A. & Mathieson, A. C. Ecological studies of *Codium fragile* in New England, USA. *Mar. Biol.* **19**, 127–132 (1973).
- Ganesan, P., Noda, K., Manabe, Y., Ohkubo, T., Tanaka, Y., & Maoka, T. (2010). Anti-angiogenic effect of siphonaxanthin from green alga, *Codium fragile* _ Elsevier Enhanced Reader.pdf. *Phytomedicine*, 17(14), 1140–1144.
- Ganesan, P., Noda, K., Yuki, M., Ohkubo, T., Tanaka, Y., Maoka, T., HIRATA, T. (2011). Siphonaxanthin, a marine carotenoid from green algae, effectively

induces apoptosis in human leukemia (HL-60) cells _ Elsevier Enhanced Reader.pdf. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1810(5), 497–503.

Gonzalez, A. V., Beltran, J. & Santelices, B. Colonization and growth strategies in two *Codium* species (Bryopsidales , Chlorophyta) with different thallus forms. *Phycologia* **53**, 353–358 (2014).

Guiry, M.D. & Guiry, G.M. 2020. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. <http://www.algaebase.org>; searched on 03 March 2020.

Hamatani, I. Notes on veligers of Japanese Opisthobranchs (7). *Publ. SETO Mar. Biol. Lab.* **15**, 121–131 (1967).

Hanisak, M. D. Growth patterns of *Codium fragile* ssp. *tomentosoides* in response to temperature, irradiance, salinity, and nitrogen source. *Mar. Biol.* **50**, 319–332 (1979).

Hanisak, M. D. Nitrogen limitation of *Codium fragile* ssp. *tomentosoides* as determined by tissue analysis. *Mar. Biol.* **50**, 333–337 (1979).

Hay, M. E., Duffy, J. E. & Pfister, C. A. Chemical defense against different marine herbivores: are amphipods insect equivalents?! *Ecol. Soc. Am.* **68**, 1567–1580 (1987).

Hillis-Colinvaux, L. Ecology and taxonomy of *Halimeda* : primary producer of coral reefs. *Adv. Mar. Biol.* **17**, 1-127. (1980)

Hoxmark, R. C. Experimental Analysis of the Life Cycle of *Ulva mutabilis*. *Bot. Mar.* **18**, 123–129 (1975).

Hwang, E. K., Baek, J. M. & Park, C. S. Cultivation of the green alga, *Codium fragile* (Suringar) Hariot, by artificial seed production in Korea. *J. Appl. Phycol.* **20**, 469–475 (2008).

菊地則雄. 千葉県館山市坂田・波左間周辺の海産植物相. 千葉県立中央博物館自然誌 研究報告特別号, (9): 25-36.(2011)

気象庁. 気象庁, 台風の統計資料. <https://www.jma.go.jp/jma/index.html>. searched on 03 March 2020.

Kitayama, T., Kawai, H. & Yoshida, T. Dominance of female gametophytes in field populations of *Cutleria cylindrica* (Cutleriales, Phaeophyceae) in the Tsugaru Strait, Japan. *Phycologia* **31**, 449–461 (1992).

Lapointe, B. E. Phosphorus- and nitrogen-limited photosynthesis and growth of *Gracilaria tikvahiae* (Rhodophyceae) in the Florida Keys: an experimental field study. *Mar. Biol.* **568**, 561–568 (1987).

Lee, I.K.& Kang J.W. A check list of marine algae in Korea. *Korean Journal of Phycology* **1**: 311-325. (1986).

Lewis, J.E. & Norris, J.N. A history and annotated account of the benthic marine algae of Taiwan. *Smithsonian Contributions to Marine Sciences* **29**: i-iv, 1-38. (1987).

LI, Z.-S., ZHENG, J.-W., MANABE, Y., HIRATA, T. & SUGAWARA, T. Anti-Obesity Properties of the Dietary Green Alga, *Codium cylindricum*, in High-Fat Diet-Induced Obese Mice. *J. Nutr. Sci. Vitaminol. (Tokyo)*. **64**, 347–356 (2018).

Lin, A., Shen, S., Wang, J. & Yan, B. Reproduction Diversity of *Enteromorpha prolifera*. *J. Integr. Plant Biol.* **50**, 622–629 (2008).

Liu Ruiyu [Liu, R.Y.] (Ed.) Checklist of biota of Chinese seas. pp. 1-1267. Beijing: Science Press, Academia Sinica. (2008).

Lopez-Mendilaharsu, M., Gardner, C. S., Riosmena-rodriguez, R. & Seminoff, and jeffrey a. Diet selection by immature green turtles (*Chelonia mydas*) at Bahía Magdalena foraging ground in the Pacific Coast of the Baja California Peninsula , Mexico. *J. Mar. Biol. Assoc. United Kingdom* **88**, 641–647 (2008).

- Lyons, D. A. & Scheibling, R. E. Context-dependant survival of the invasive seaweed *Codium fragile* ssp. *tomentosoides* in kelp bed and urchin barren habitats off Nova Scotia. *Aquat. Biol.* **2**, 17–27 (2008).
- Lyons, D. A. & Scheibling, R. E. Range expansion by invasive marine algae: rates and patterns of spread at a regional scale. *Biodivers. Res.* 762–775 (2009).
- Lyons, D. A., Van Alstyne, K. L. & Scheibling, R. E. Anti-grazing activity and seasonal variation of dimethylsulfoniopropionate- associated compounds in the invasive alga *Codium fragile* ssp. *tomentosoides*. *Mar. Biol.* **153**, 179–188 (2007).
- Malinowski, K. C. & Ramus, J. Growth of the green alga *Codium fragile* in a Connecticut estuary. *J. Phycol.* **9**, 102–110 (1973).
- Matsubara, K., Mori, M., Matsumoto, H. & Hori, K. Antiangiogenic properties of a sulfated galactan isolated from a marine green alga, *Codium cylindricum*. *J. Appl. Phycol.* 87–90 (2003).
- Miravalles, A. B., Leonardi, P. I. & Cáceres, E. J. Female gametogenesis and female gamete germination in the anisogamous green alga *Codium fragile* subsp. *novae-zelandiae* (Bryopsidophyceae, Chlorophyta). *Phycol. Res.* **60**, 77–85 (2012).
- Narita, M. , Agatsuma, Y. & Taniguchi, K. (2008). Marine Algae in Matsushima Bay, Northeastern Honshu, Japan. *Aquaculture* **56**, 387–399
- Neill, P. E., Alcalde, O., Faugeton, S., Navarrete, S. A. & Correa, J. A. Invasion of *Codium fragile* ssp. *tomentosoides* in northern Chile: A new threat for *Gracilaria* farming. *Aquaculture* **259**, 202–210 (2006).
- Nguyen, T.V., Le, N. H., Lin, S.-M., Steen, F. & De Clerck, O. Checklist of the marine macroalgae of Vietnam. *Botanica Marina* 56(3): 207-227. (2013).

- 大葉英雄. 1995. 海藻類の生活史解明—緑藻ミル型生活史とはなんだろうか—. 科学研究補助金（一般研究 C）研究成果報告書, 平成 6 年度
- Oppliger, L. V., Correa, J. A. & Peters, A. F. Parthenogenesis in the brown alga *Lessonia nigrescens* (Laminariales, Phaeophyceae) from central Chile. *J. Phycol.* **43**, 1295–1301 (2007).
- Prince, J. S. Sexual reproduction in *Codium fragile* ssp. *tomentosoides* (Chlorophyceae) from the northeast coast of north America. *J. Phycol.* **24**, (1988).
- Prince, J. S. & Trowbridge, C. D. Reproduction in the green macroalga *Codium* (Chlorophyta): Characterization of gametes. *Bot. Mar.* **47**, 461–470 (2004).
- Ramus, J. Differentiation of the green alga *Codium fragile*. *Am. J. Phycol.* **59**, 478–482 (1972).
- Riosmena-rodríguez, R. & Holguín-Acosta, E. Population Structure of *Codium amplivesiculatum* (Chlorophyta) Associated with Rhodolith Beds from the Southwestern Gulf of California. *Algae*. **23**, 141–150 (2008).
- Scheibling, R. E. & Anthony, S. X. Feeding, growth and reproduction of sea urchins (*Strongylocentrotus droebachiensis*) on single and mixed diets of kelp (*Laminaria* spp.) and the invasive alga *Codium fragile* ssp. *tomentosoides*. *Mar. Biol.* **139**, 139–146 (2001).
- Scheibling, R. E. & Gagnon, P. Competitive interactions between the invasive green alga *Codium fragile* ssp. *tomentosoides* and native canopy-forming seaweeds in Nova Scotia (Canada). *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **325**, 1–14 (2006).
- Scheibling, R. E. & Melady, R. A. Effect of water movement and substratum type on vegetative recruitment of the invasive green alga *Codium fragile* ssp. *tomentosoides*. *Bot. Mar.* **51**, 341–349. (2008).

- Schmidt, A. & Scheibling, R. E. Population dynamics of an invasive green alga, *Codium fragile* subsp. *tomentosoides*, in tidepools on a rocky shore in Nova Scotia, Canada. *Ecoscience* **12**, 403–411 (2005).
- Schmidt, A. L. & Scheibling, R. E. A comparison of epifauna and epiphytes on native kelps (*Laminaria* species) and an invasive alga (*Codium fragile* ssp. *tomentosoides*) in Nova Scotia, Canada. *Bot. Mar.* **49**, 315–330 (2006).
- 瀬戸 龍太郎. 千葉県館山産アイゴ *Siganus fuscescens* の食性の季節変化. 東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科修士論文.(2019).
- Shimada S., Tadano T. & Tanaka J. *Codium tenuifolium* (Codiales, Chlorophyta), a new species from Japan. *J. Jpn. Bot.* **82**, 117–152 (2007)
- Silva, P.C. *Codium* in Scandinavian waters. *Svensk Botanisk Tidskrift* **51**: 117–134.(1957)
- Silva,P.C. *Codium* (Chlorophyta) of the tropical western Atlantic. *Nova Hedwigia* **1**: 497–536. (1960)
- Silva, P.C., Meñez, E.G. & Moe, R.L. Catalog of the benthic marine algae of the Philippines. *Smithsonian Contributions to Marine Sciences* **27** : [i-ii] iii-iv, 1-179, 2 figs, 1 table. (1987).
- Steller, D. L., Guez, R. R., Foster, M. S. & Roberts, C. A. Rhodolith bed diversity in the Gulf of California : the importance of rhodolith structure and consequences of disturbance. *Aquat. Conserv. Mar. Freshw. Ecol.* **13**, 5–20 (2003).
- Trowbridge, C. D. Mesoherbivory : the ascoglossan sea slug *Placida dendritica* may contribute to the restricted distribution of its algal host. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **83**, 207–220 (1992).
- Trowbridge, C. D. Demography and phenology of the intertidal green alga *Codium setchellii*: the enigma of local scarcity on sand-influenced rocky shores. *Mar. Biol.* **127**, 341–351 (1996).
- Trowbridge, C. D. Ecology of *Codium fragile* (Suringar) Hariot 1889: invasive and

- non-invasive subspecies. *Oceanography and Marine Biology: an Annual Review* **36**, 1–64 (1998).
- Trowbridge, C. D., Hirano, Y. J. & Hirano, Y. M. Sacoglossan Opisthobranchs Associated with the Green Macroalgae *Codium* spp. on Pacific Rocky Shores of Japan. *Venus J. Malacol. Soc. Japan* **66**, 175–190 (2008).
- Tseng, C. K. Common Seaweeds of China. pp. 1–318, 149 pls. Beijing: Science Press. (1984)
- Watanabe, S., Metaxas, A. & Scheibling, R. E. Dispersal potential of the invasive green alga *Codium fragile* ssp. *fragile*. *J. Exp. Mar. Bio. Ecol.* **381**, 114–125 (2009).
- Yamagishi, Y. & Kogame, K. Female Dominant Population of *Colpomenia peregrina* (Scytosiphonales, Phaenophyceae). *Phycologia* **41**, 217–222 (1998).
- 横浜康継 . 海の中の森の生態. 講談社. (1985)
- 吉田忠生. 新日本海藻誌 日本産海藻類総覧 p.129 内田老鶴圃 (1998)
- 吉田忠生、鈴木雅大、吉永一男. 日本産海藻目録 藻類 = The Japanese journal of phycology 63(3), 129-189 (2015)
- 四井敏雄, 右田清治. 緑藻ミルの再生髄糸による養殖. 日本水産学会誌 **55**: 41-44 (1989)

8. 図表

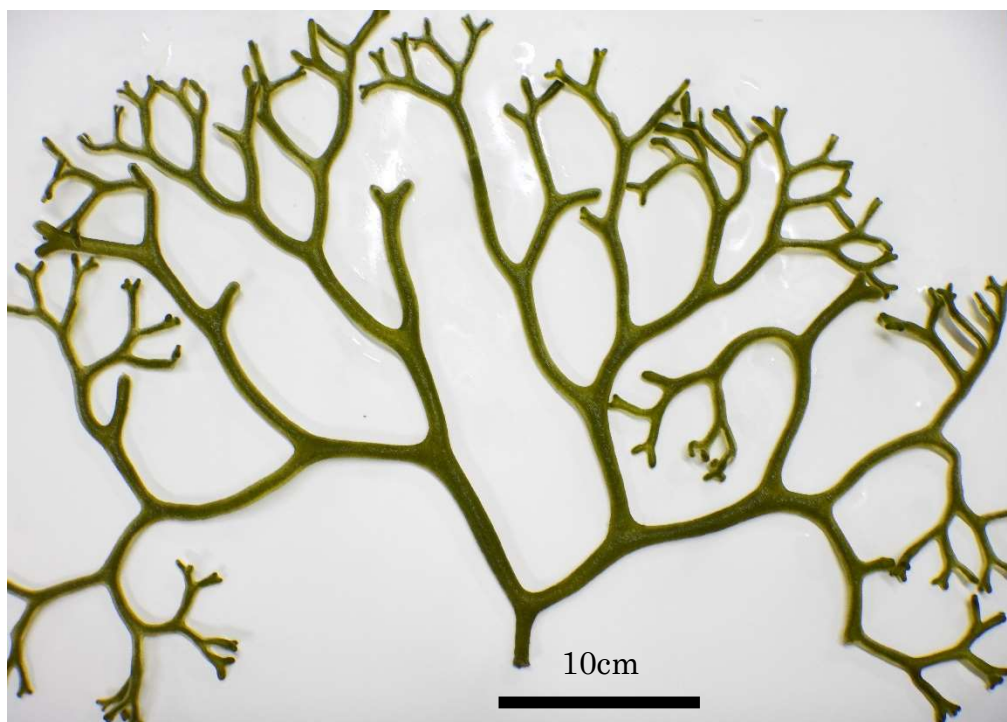


Fig. 1 ナガミル *Codium cylindricum*

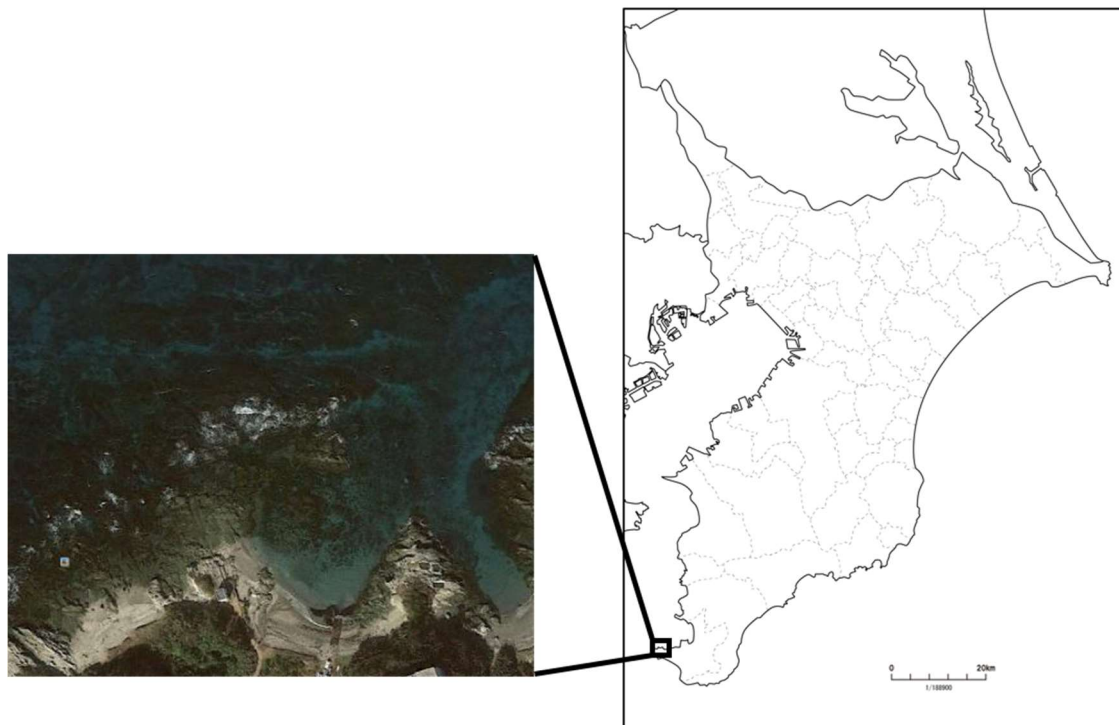


Fig. 2 千葉県坂田地先における調査海域



Fig. 3 調査地点である水深 5m 前後の海底の様子



Fig. 4 水温、照度の計測のため設置したロガーの設置状況



Fig. 5 クロミル *Codium subtubulosum* の成体



Fig. 6 ナガミル (左) とクロミル (右) の幼体



Fig. 7 採集したナガミルの寄り藻（2018年8月撮影）



Fig. 8 陸上に引き揚げたナガミル藻体



Fig. 9 成熟時期・性比調査用に採集した藻体（一部）

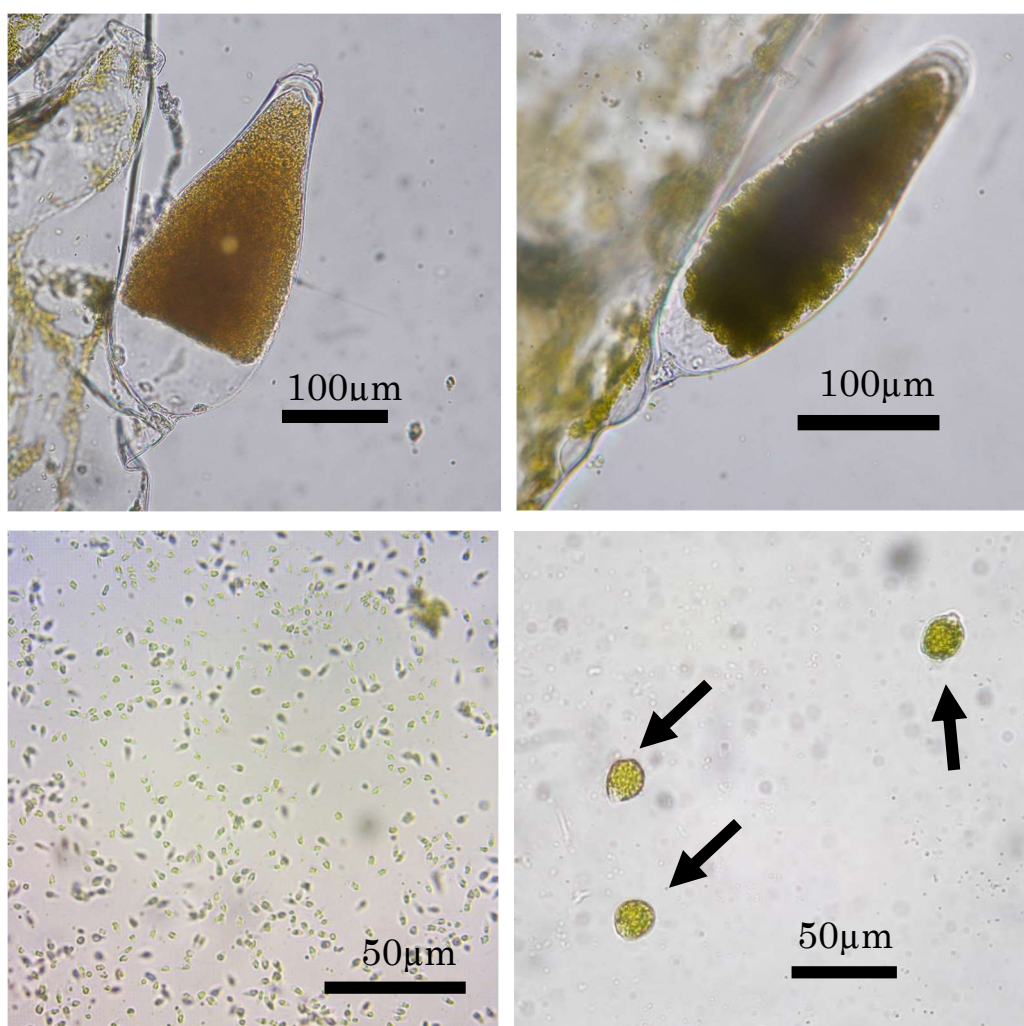


Fig. 10 雄性配偶子囊（左上）、雌性配偶子囊（右上）、雄性配偶子（左下）、雌性配偶子（右下）

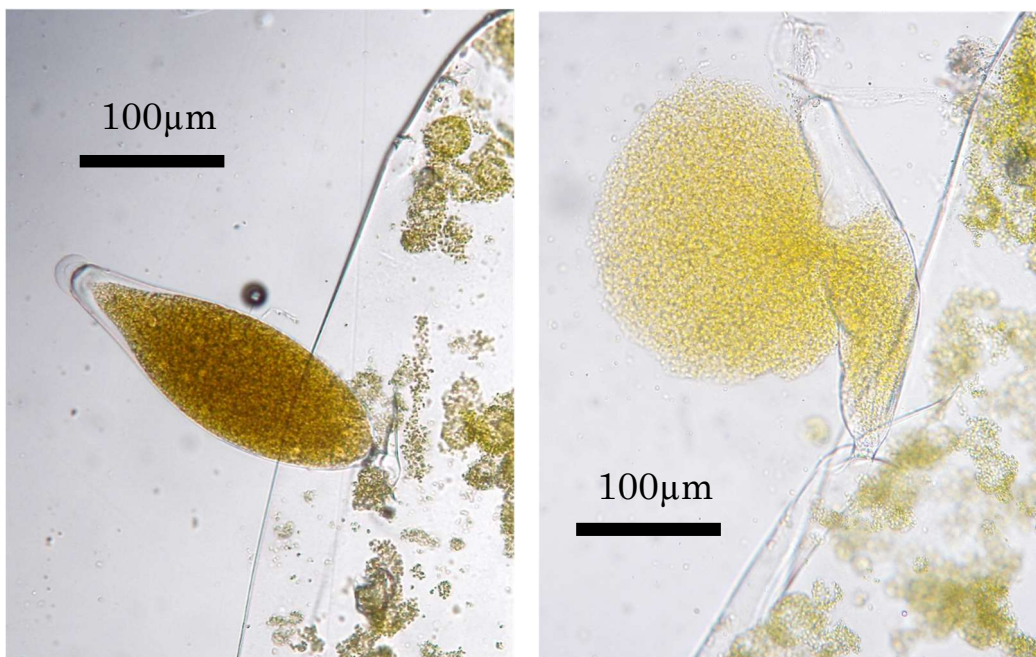


Fig. 11 未発達配偶子嚢（左）、未発達配偶子嚢を押しつぶした際の様子（右）

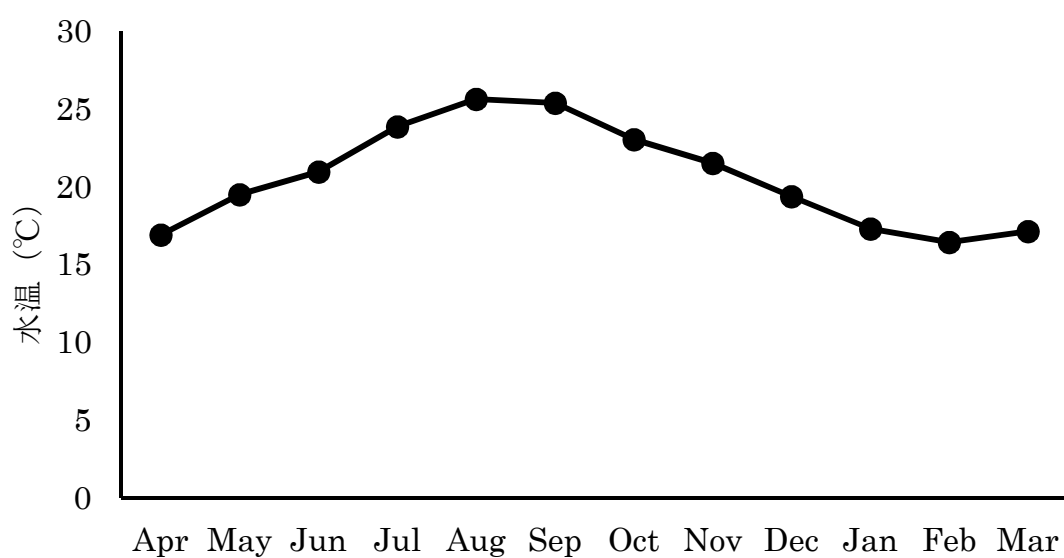


Fig. 12 調査地点における月平均水温の推移 (2018 年 4 月～2019 年 3 月)

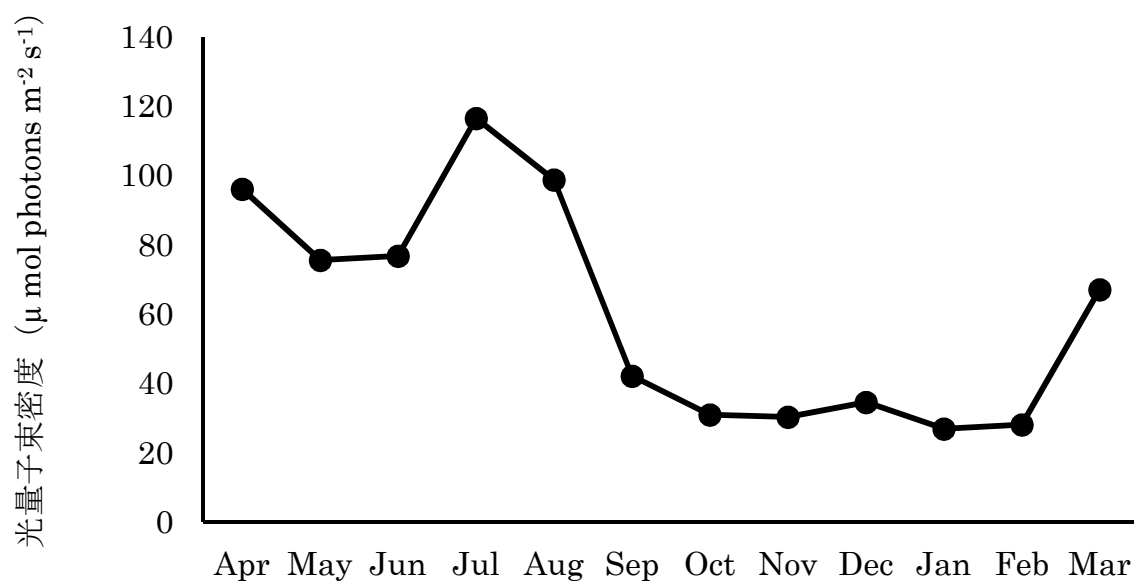


Fig. 13 調査地点における月平均光量子束密度の推移
(2018 年 4 月～2019 年 3 月)

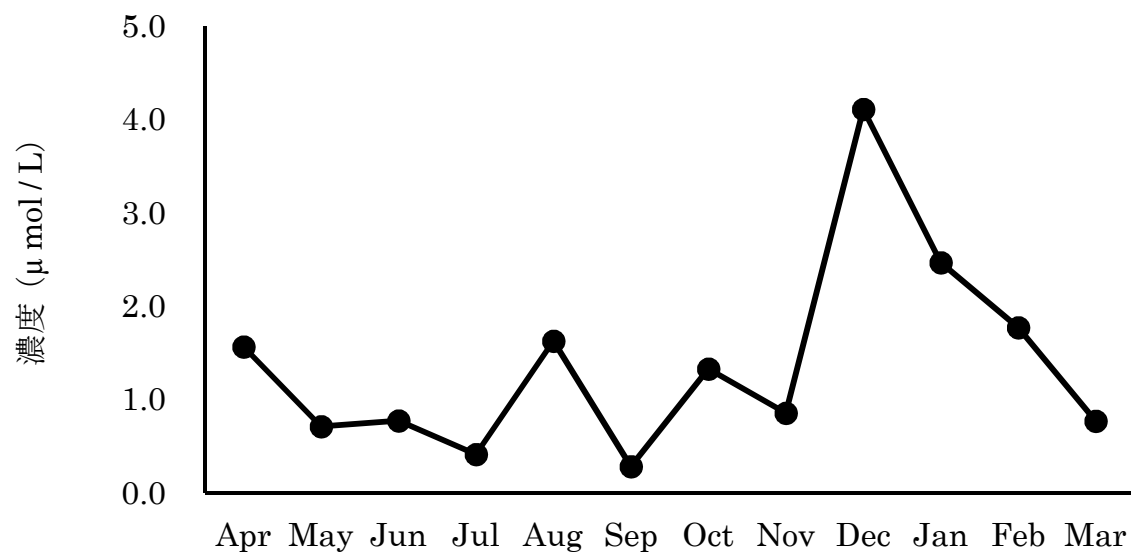


Fig. 14 調査海域における DIN 濃度の推移 (2018 年 4 月～2019 年 3 月)

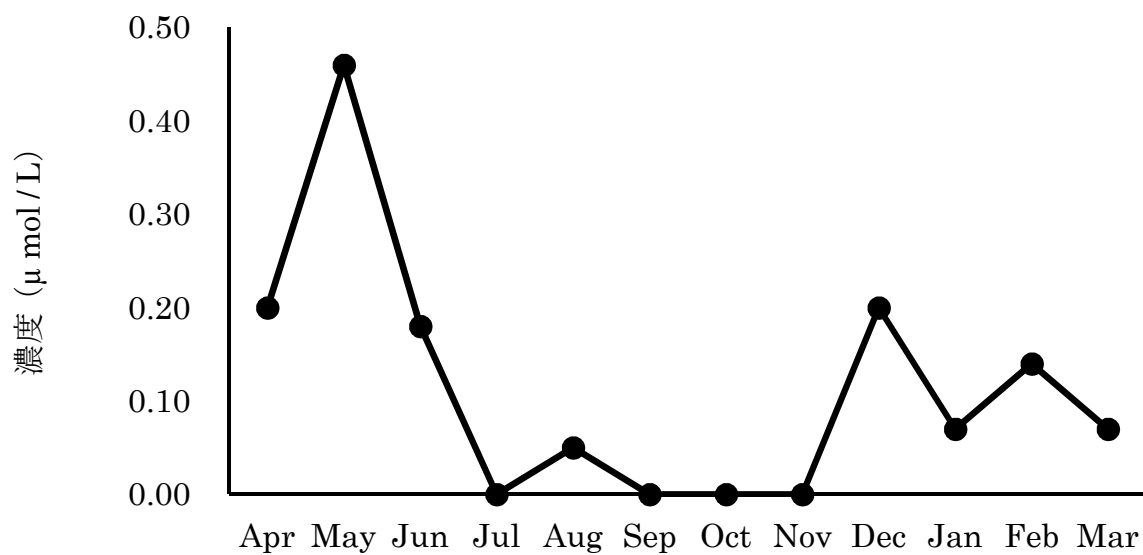


Fig. 15 調査海域におけるリン酸態リン濃度の推移 (2018 年 4 月～2019 年 3 月)

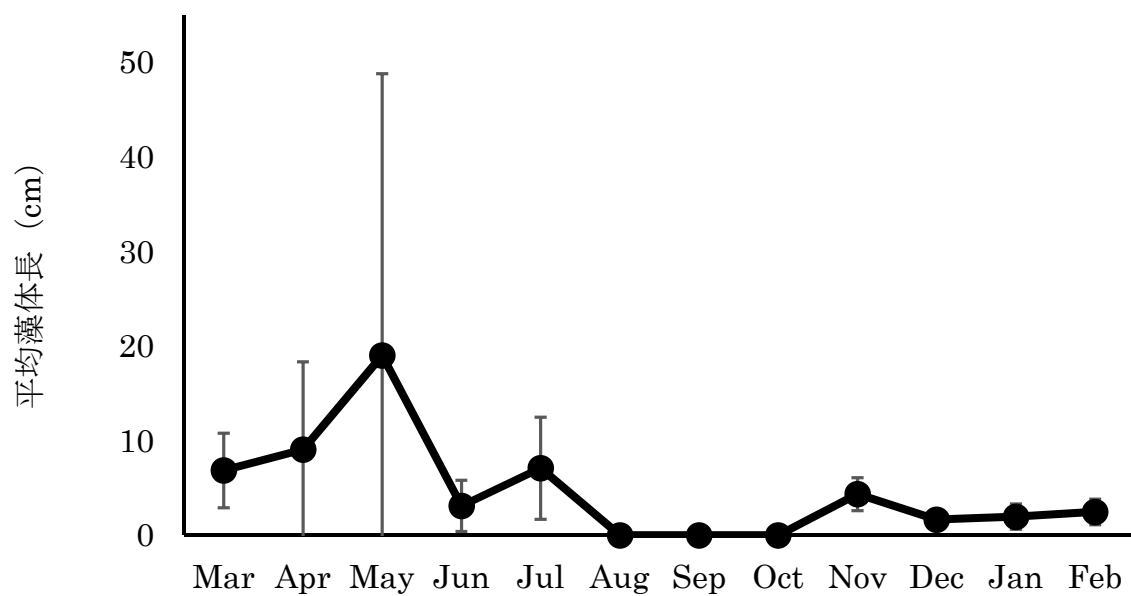


Fig. 16 枠内着生藻体の平均藻体長の推移 (2018年3月～2019年2月)

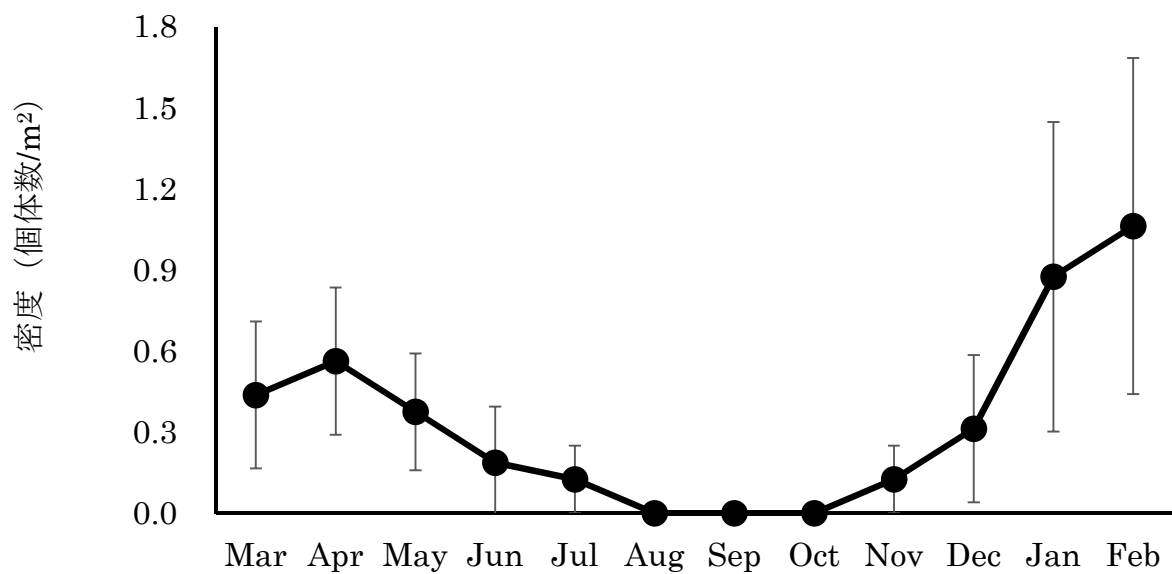


Fig. 17 枠内着生藻体の平均密度の推移 (2018年3月～2019年2月)



Fig. 18 多数観察された新規加入藻体（2019年2月撮影）



Fig. 19 基質に付着した藻体（左）、枠内で確認されたなかで最大の着生藻体（右）
（両写真とも 2018 年 5 月撮影）

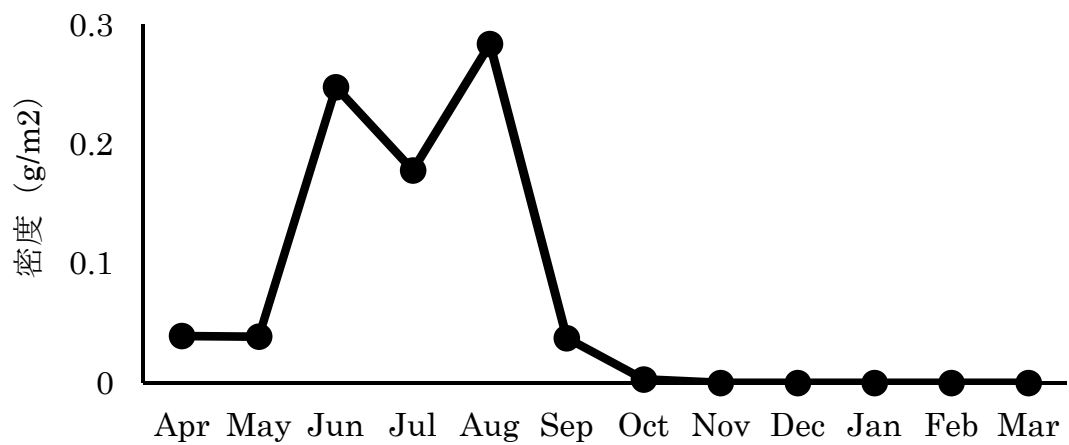


Fig. 20 寄り藻密度の推移



Fig. 21 海底に滞留する寄り藻（左）、海面近くから撮影した寄り藻（右）
（両写真とも 2019 年 8 月撮影）

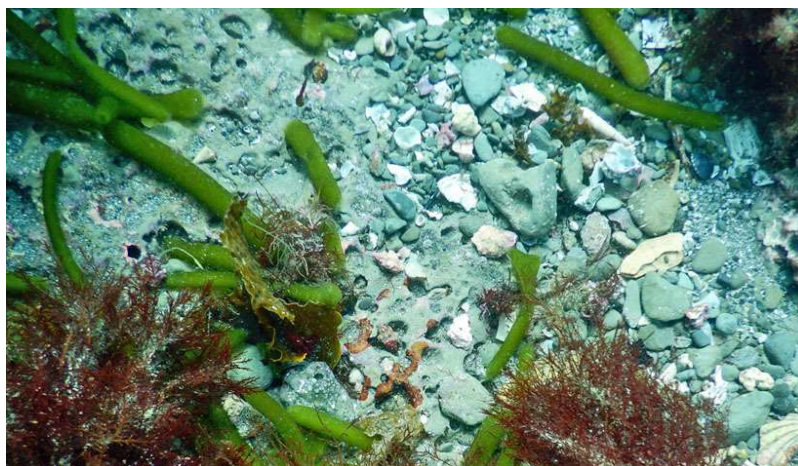
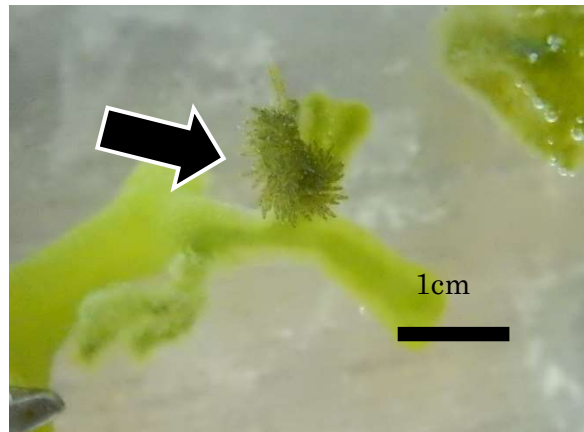


Fig. 22 短く断片化した寄り藻（2018 年 9 月撮影）



ミドリアマモウミウシ *Placida dendritica*



ヒラミルミドリガイ *Elysia trisinuata*



アオモウミウシ *Stiliger ornatus*

Fig. 23 ナガミル藻体上で観察された囊舌目ウミウシ類

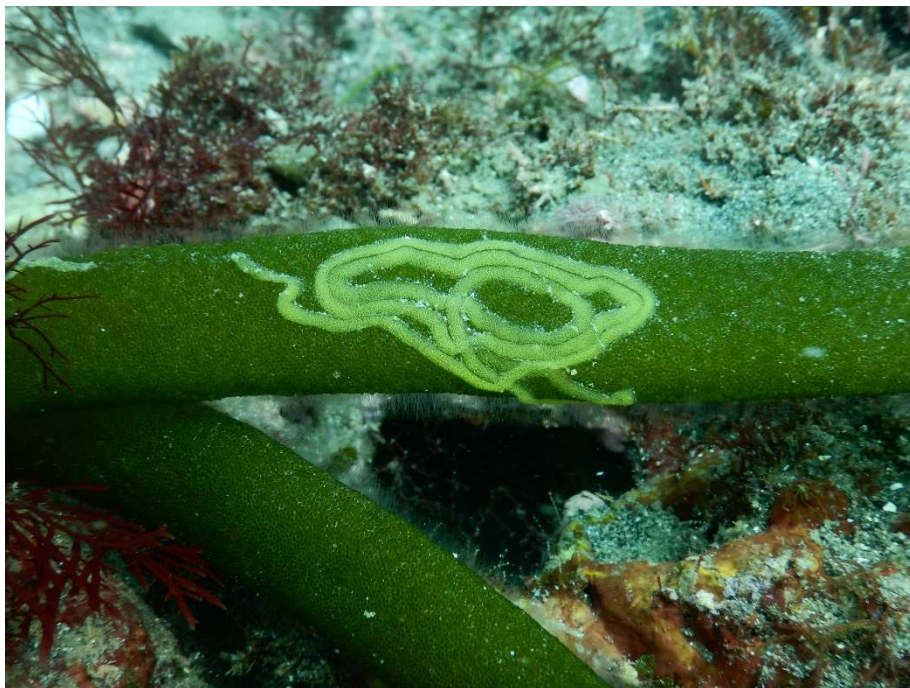


Fig. 24 ナガミル上に産み付けられたミドリアマモウミウシの卵塊



Fig. 25 ナガミルを摂食するアメフラシ *Aplysia kurodai*

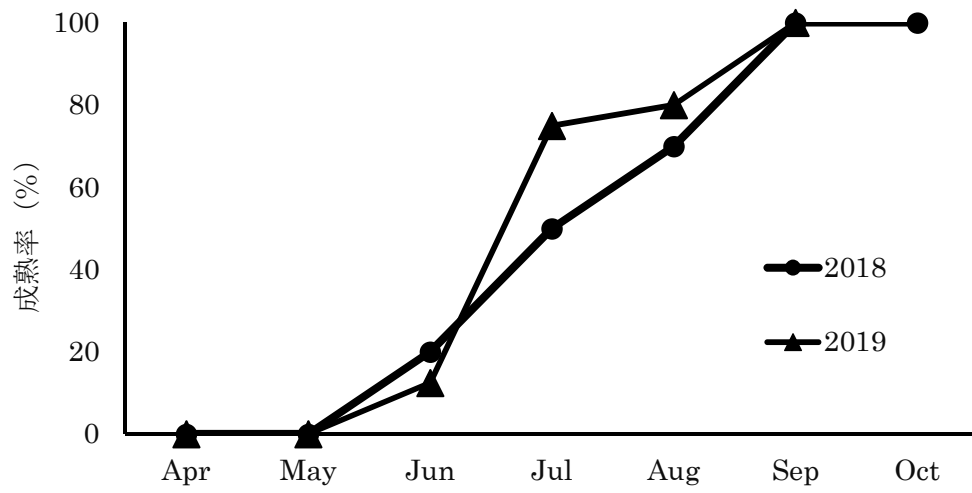


Fig. 26 個体ごとの成熟率

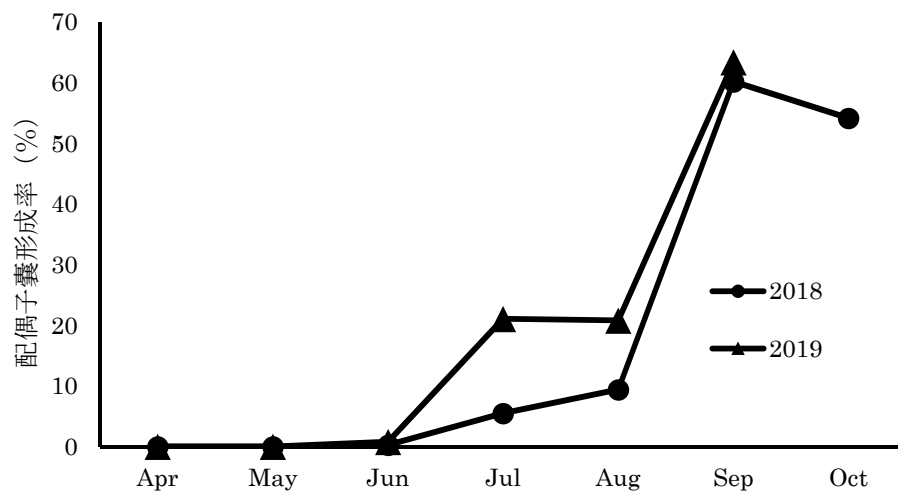


Fig. 27 小囊の配偶子嚢形成率

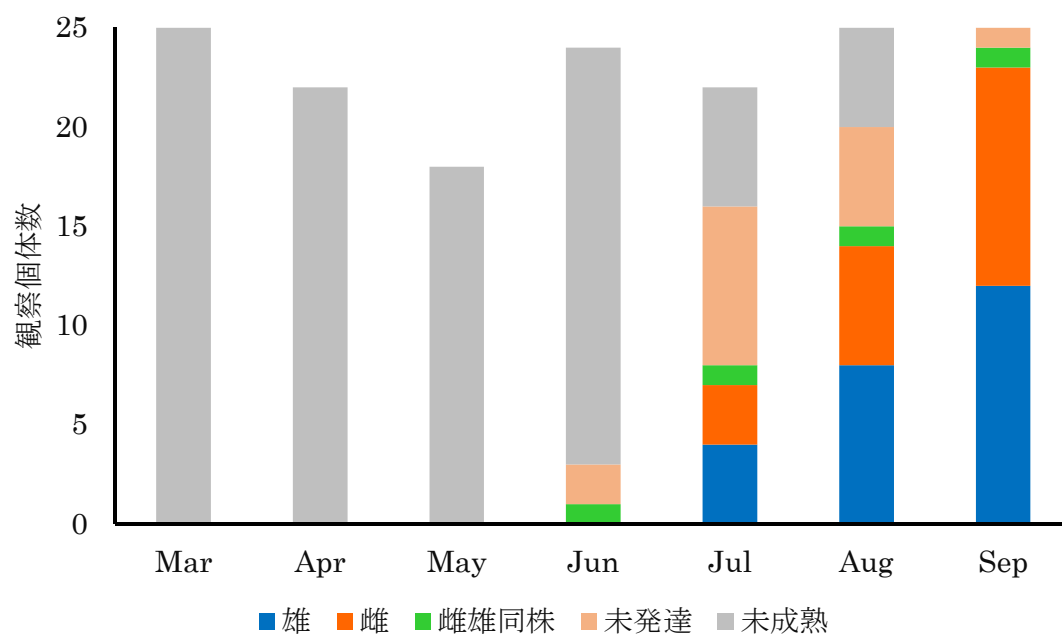


Fig. 28 藻体ごとの性比

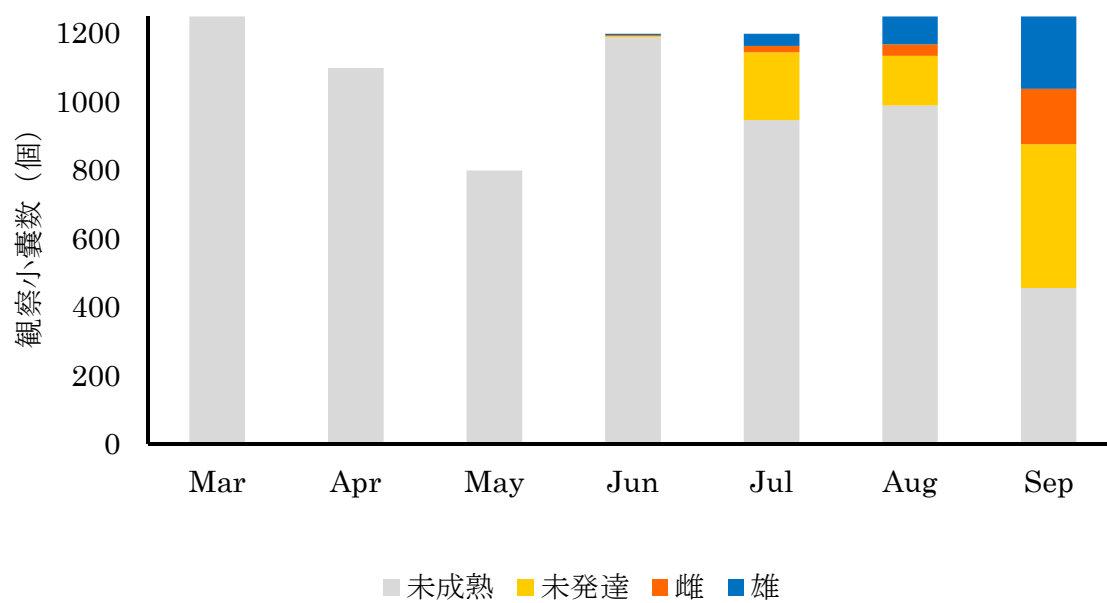


Fig. 29 小嚢ごとの雌雄比

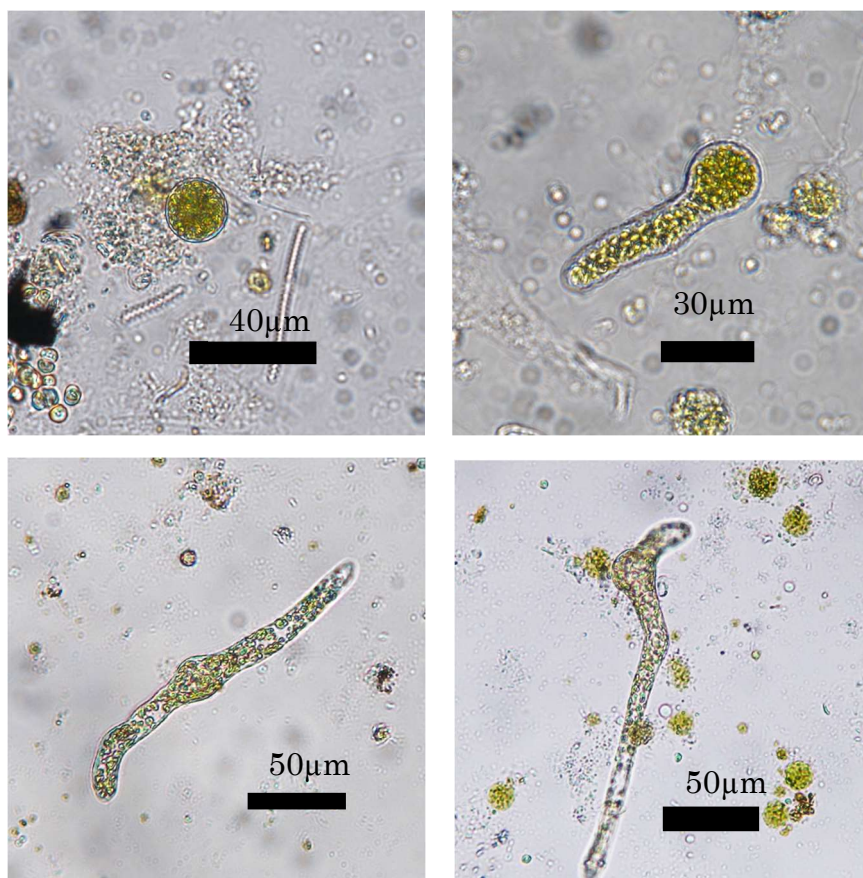


Fig. 30 ナガミルの初期発生

着底した接合子（左上）、発芽初期の発芽体（右上）、
接合子から二極的に発芽管を伸長させた発芽体（左下、右下）

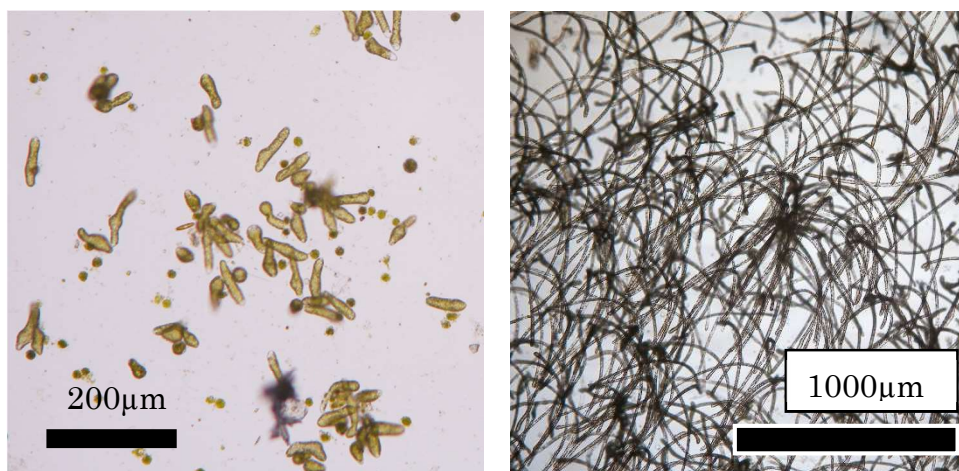


Fig. 31 有性生殖によって生じた無数の発芽体（左：2日目、右：30日目）

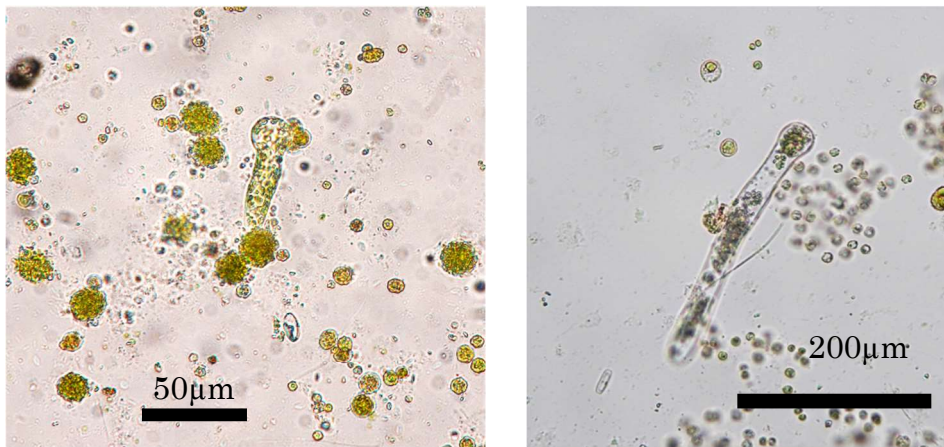


Fig. 32 無性生殖によって生じたと考えられる発芽体（左：2日目、右：30日目）

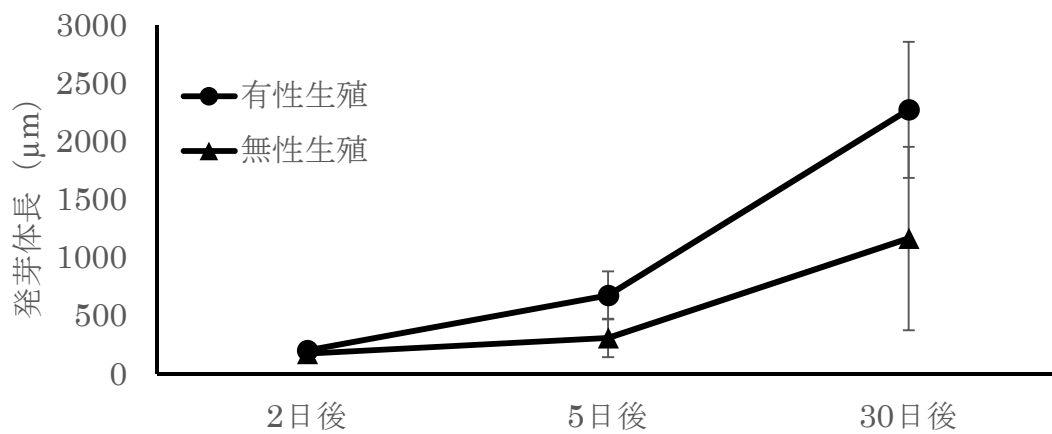


Fig. 33 有性・無性生殖検証実験における発芽体長の推移

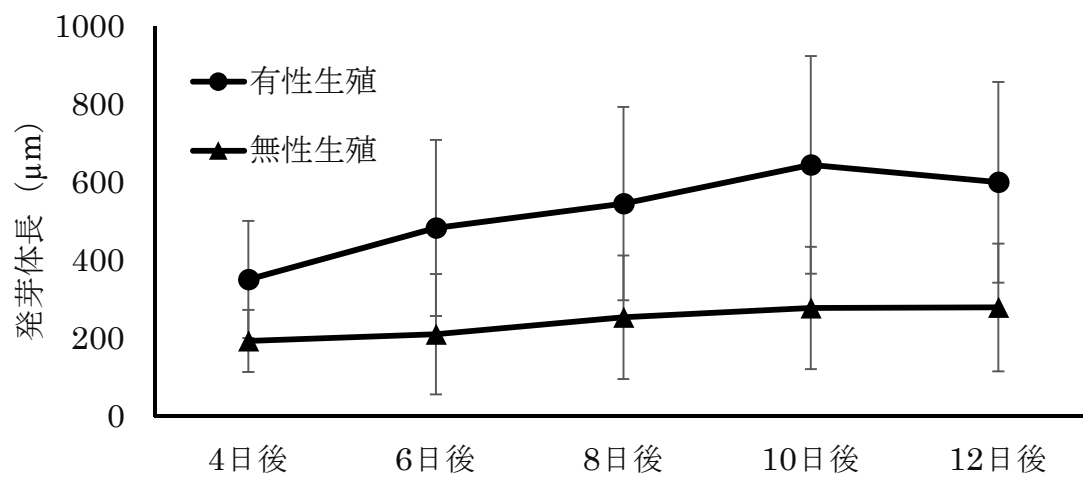


Fig. 34 生長特性比較用再実験における発芽体長の推移



Fig. 35 配偶子嚢様組織から確認された発芽（左）
この組織のみ取り出しておよそ1か月間培養して得た糸状組織（右）

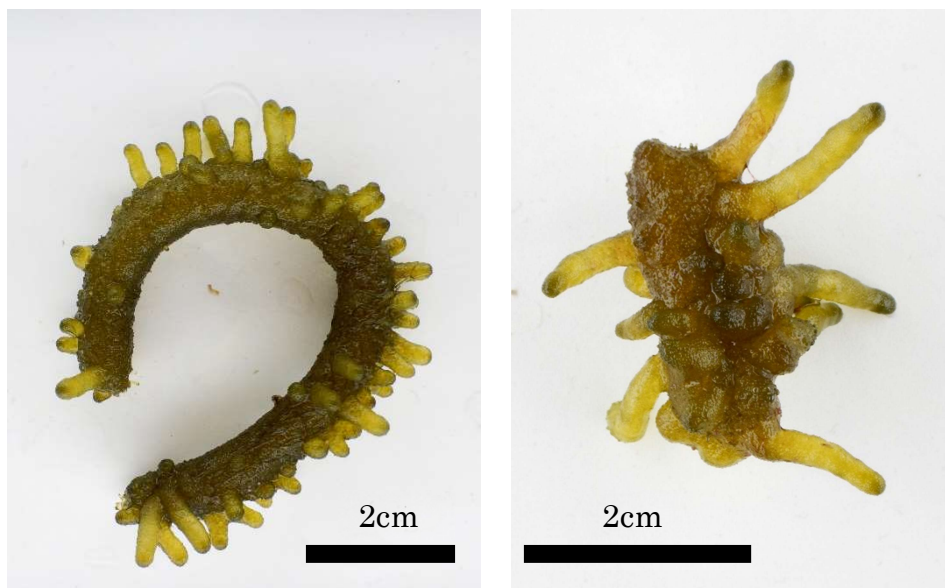


Fig. 35 約6か月間培養した成熟藻体から発生した芽生えによく似た藻体